

**Untersuchungen zur Bildung, Relevanz und Nachweis von adsorbierbaren  
organischen Halogenverbindungen (AOX) bei der Weinbereitung  
durch Reinigung und Desinfektion**

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften  
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina

zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

genehmigte

D i s s e r t a t i o n

von Jan Bernd Barhorst  
aus Steinfeld (Oldenburg)

1. Referent: Professor Dr. Peter Winterhalter  
2. Referent: Privatdozent Dr. Roland Kubiak  
eingereicht am: 18.09.2007  
mündliche Prüfung (Disputation) am: 15.11.2007

Druckjahr 2007

## **Vorveröffentlichungen der Dissertation**

Teilergebnisse dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch den Mentor dieser Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

### **Tagungsbeiträge:**

BARHORST, J. B.; POLLATZ, T.; KUBIAK, R.: *AOX bei der Weinbereitung durch Reinigung und Desinfektion*. 10. SETAC GLB-Tagung in Basel (2005)

BARHORST, J. B.; POLLATZ, T.; KUBIAK, R.: *AOX bei der Weinbereitung durch Reinigung und Desinfektion und Identifizierung von halogenierten Nebenprodukten der Desinfektion / AOX-Verbindungen in der Weinbereitung und Bildung und Verbleib von organischen Halogenverbindungen im Weinbau*. FDW-Arbeitskreistagungen Veitshöchheim (2005), Neustadt/Weinstraße (2006) und Oppenheim (2007)

BARHORST, J. B.; POLLATZ, T.; KUBIAK, R.: *Formation of AOX in viticulture during disinfection*. CRTE scientific group meeting in Esch-sur-Alzette (2007)

### **Poster:**

BARHORST, J. B.; POLLATZ, T.; KUBIAK, R.: *Untersuchungen zur Bildung, Relevanz und Nachweis von adsorbierbaren organischen Halogenverbindungen (AOX) bei der Weinbereitung durch Reinigung und Desinfektion*. Rheinland-Pfalz Ausstellung, Mainz (2007)



## **Danksagung**

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Juli 2004 bis Juni 2007 am Institut für Agrarökologie (IfA) der RLP AgroScience GmbH (ehemaliger Fachbereich Ökologie des DLR Rheinpfalz) in Neustadt an der Weinstraße unter der Leitung von Dr. habil. R. Kubiak in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. P. Winterhalter vom Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität Braunschweig durchgeführt.

Bei Herrn Dr. habil. Roland Kubiak bedanke ich mich für die Überlassung des Themas und die Betreuung der Arbeit an der RLP AgroScience, seine Diskussionsbereitschaft und die Freiräume bei der Umsetzung meiner Ideen.

Herrn Prof. Dr. Peter Winterhalter möchte ich für die Übernahme des 1. Referates der Dissertation und die universitäre Betreuung an der TU Braunschweig sowie seine freundliche Beratung während der Promotion danken.

Herrn Prof. Dr. Robert Kreuzig spreche ich meinen Dank für die Bereitschaft zur Übernahme des Vorsitzes der Prüfungskommission und die ausgezeichnete Leitung der Disputation aus.

Dem Forschungsring des Deutschen Weinbaus (FDW) bei der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft (DLG) danke ich für die Finanzierung der Arbeit.

Mein herzlicher Dank gilt Thorsten Pollatz, dem Leiter der Arbeitsgruppe „Betriebliches Stoffstrommanagement“, für seine Hilfestellungen und Förderung. Bei Heidi Zimmermann und Zbigniew Wolniewicz bedanke ich mich für das angenehme Arbeitsklima sowie die guten Diskussionen und Gemeinschaft in den vergangenen drei Jahren.

Großer Dank gebührt Dr. Michael Twertek aus dem Fachbereich Phytomedizin des DLR Rheinpfalz für die Bereitstellung der GC-MS-Technik und die freundschaftliche und wertvolle Zusammenarbeit und Diskussion in der Analytischen Chemie. Bedanken möchte ich mich ebenso bei seiner Mitarbeiterin Irene Johann.

Bei Carola Balcke bedanke ich mich für die Korrekturen der Dissertation.

Den Mitarbeitern des Staatsweingutes mit Johannitergut Neustadt/Weinstraße sowie der Kläranlagen Neustadt/Weinstraße und Niederkirchen danke ich für die Gelegenheit, Proben zu nehmen.

Mein besonderer Dank gilt meiner Freundin Hang für Ihren Rückhalt während der gesamten Promotionszeit. Abschließend möchte ich meinen Eltern danken, ohne deren langjährige Förderung und Unterstützung diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.



## Summary

Disinfection in viticulture results in effluents which are contaminated with halogenated substances. These disinfection by-products can be quantified as adsorbable organic halides (AOX). In this study the formation of AOX as well as single disinfection by-products in viticulture after use of sodium hypochlorite and peroxyacetic acid was examined. Operations of disinfection in vinification and conditions of AOX formation in effluents were simulated and concentrations of AOX were measured. Whereas no AOX were formed after the application of peroxyacetic acid, treatment with sodium hypochlorite resulted in the formation of high concentrations of AOX. Single disinfection by-products were identified and quantified. The most important by-products formed during disinfection in viticulture are chloroform, dichloroacetic acid, and trichloroacetaldehyde. In addition, the formation of carbon tetrachloride, tetrachloroethylene, 1,1,1-trichloropropanone, 2,4-dichlorobenzoic acid, and 2-chloro-/2,4-dichlorophenylacetic acid was investigated. The influence of temperature, concentration of sodium hypochlorite and source and/or concentration of organic matter on the formation of halogenated disinfection by-products were determined. Further, the synthesis of off-flavour compounds like chlorinated anisoles as well as non-halogenated aldehydes and nitriles resulting in the chlorination of amino acids were examined.

Effluents from a winery were sampled during vintage. After disinfection with sodium hypochlorite even in these sewages high concentrations of chloroform were formed. Further, a high formation of dichloroacetic acid and trichloroacetaldehyde was detected. Other halogenated disinfection by-products were 1,1,1-trichloropropanone, 2,4-dichlorotoluene, trichloronitromethane, dichloroacetonitrile, 2-chloro-/2,4-dichlorophenylacetic acid, and 2-chlorobenzoic acid. In addition, the in- and outflows of two sewage treatment plants were analysed during vintage. Because of dilution, volatilisation, adsorption, and decomposition in these effluents only chloroform and chlorinated aromatic acids were detectable. Research into aerobic degradation of halogenated disinfection by-products was conducted to confirm these results.

The present study will help to reduce the contamination of the environment via disinfection processes with sodium hypochlorite and makes a contribution to quality assurance in viticulture. If the load of organic material in effluents is reduced and sodium hypochlorite is utilised at low temperatures and effective concentrations, the generation of halogenated disinfection by-products can be minimised. This reduces the contamination of the environment via disinfection processes with sodium hypochlorite in viticulture.





## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	V
Abbildungsverzeichnis .....	VII
Tabellenverzeichnis.....	IX
<b>1 Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Thematische Einführung .....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Reinigung und Desinfektion in der Weinbereitung .....	1
1.1.2 Definition von AOX.....	3
1.1.3 Desinfektionsmittel in der Weinbereitung .....	4
1.1.4 Gesetzliche Rahmenbedingungen .....	6
<b>2 Problemstellung.....</b>	<b>9</b>
<b>3 Ergebnisse und Diskussion.....</b>	<b>11</b>
<b>3.1 Darstellung von AOX-Bildungssituationen.....</b>	<b>11</b>
3.1.1 Bildung von AOX bei Verwendung von Natriumhypochlorit.....	11
3.1.1.1 Simulierung von Reinigungsvorgängen .....	11
3.1.1.2 Simulierung des Abwassersammeltanks /-kanals.....	15
3.1.2 Bildung von AOX bei Verwendung von Peroxyessigsäure.....	17
3.1.2.1 Bildung von AOX aus Peroxyessigsäure und NaCl.....	17
3.1.2.2 Bildung von AOX in der Weinbereitung.....	19
3.1.3 Fraktionierung von AOX .....	20
<b>3.2 Untersuchung halogenierter Substanzen in Simulations-Versuchen .....</b>	<b>22</b>
3.2.1 Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe.....	22
3.2.1.1 Chloroform .....	24
3.2.1.2 Tetrachlorkohlenstoff .....	25

3.2.1.3	Tetrachlorethen.....	27
3.2.2	Halogenierte Essigsäuren.....	28
3.2.3	Halogenierte Aldehyde, Ketone, Acetonitrile und Chlorpikrin .....	31
3.2.3.1	Trichloracetaldehyd.....	32
3.2.3.2	1,1,1-Trichlorpropanon.....	35
3.2.4	Halogenierte aromatische Säuren.....	37
3.2.5	Halogenierte Phenole, 2-Chloranilin .....	40
3.2.6	Halogenierte Anisole .....	42
3.2.7	3-Chlor-4- (dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon.....	44
<b>3.3</b>	<b>Verhalten von freien Aminosäuren während der Desinfektion .....</b>	<b>45</b>
3.3.1	Vorkommen und Reaktion von Aminosäuren in Weinbau-Abwasser.....	45
3.3.2	Umsetzung von Aminosäuren zu Aldehyden und Nitrilen .....	48
<b>3.4</b>	<b>Zusammensetzung von AOX.....</b>	<b>55</b>
3.4.1	Untersuchungen zum Adsorptionsverhalten .....	55
3.4.2	Anteile einzelner Nebenprodukte der Desinfektion an AOX .....	57
<b>3.5</b>	<b>Untersuchung halogenierter Substanzen während der Weinlese .....</b>	<b>63</b>
3.5.1	Probenahme im Weinbau-Betrieb und in Kläranlagen .....	63
3.5.1.1	Weinbau-Betrieb.....	63
3.5.1.2	Kläranlagen.....	63
3.5.2	Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe und chlorierte Anisole .....	64
3.5.3	Halogenierte Essigsäuren.....	69
3.5.3.1	Dichloressigsäure in Weinbau-Abwasser.....	69
3.5.3.2	Aerobes Abbau-Verhalten von Dichloressigsäure .....	70
3.5.4	Halogenierte Aldehyde, Ketone, Acetonitrile und Chlorpikrin .....	73
3.5.4.1	Charakterisierung der Weinbau-Abwässer.....	73
3.5.4.2	Aerobes Abbau-Verhalten von Trichloracetaldehyd.....	74

3.5.5	Aromatische halogenierte Säuren .....	77
3.5.6	Halogenierte Phenole und Toluole.....	84
3.5.7	3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon .....	84
3.5.8	Gesamtzusammensetzung der Proben.....	85
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>87</b>
<b>5</b>	<b>Ausblick.....</b>	<b>89</b>
<b>6</b>	<b>Material und Methoden.....</b>	<b>90</b>
<b>6.1</b>	<b>Untersuchungen zum Summenparameter AOX.....</b>	<b>90</b>
6.1.1	Bestimmungsmethode für AOX.....	90
6.1.2	Bestimmung des Aktivchlor-Gehaltes von Natriumhypochlorit .....	92
6.1.3	Untersuchungen zum AOX-Bildungspotential .....	93
6.1.3.1	Natriumhypochlorit .....	93
6.1.3.2	Peroxyessigsäure .....	94
6.1.4	Fraktionierung von AOX .....	95
<b>6.2</b>	<b>Quali- und Quantifizierung von Nebenprodukten der Desinfektion.....</b>	<b>96</b>
6.2.1	Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe.....	101
6.2.1.1	"Headspace"-Methodik.....	101
6.2.1.2	"Purge-and-Trap"-Methodik.....	102
6.2.2	Halogenierte Essigsäuren.....	104
6.2.2.1	Bestimmungsmethode für Simulationsversuche .....	104
6.2.2.2	Proben aus Kläranlagen und aerobe Abbau-Versuche .....	105
6.2.3	Halogenierte Aldehyde, Ketone, Chlorpikrin, Acetonitrile .....	106
6.2.3.1	Bestimmungsmethode für Simulationsversuche .....	106
6.2.3.2	Proben aus Kläranlagen und aerobe Abbau-Versuche .....	108
6.2.4	Halogenierte aromatische Säuren.....	108

6.2.5	Chlorierte Phenole, Toluole und 2-Chloranilin .....	112
6.2.6	Halogenierte Anisole .....	114
6.2.7	3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon.....	115
<b>6.3</b>	<b>Erfassung von Nebenprodukten der Desinfektion als AOX.....</b>	<b>116</b>
<b>6.4</b>	<b>Verhalten freier Aminosäuren bei der Desinfektion.....</b>	<b>116</b>
<b>6.5</b>	<b>Aerobes Abbauverhalten in aquatischen Medien.....</b>	<b>119</b>
6.5.1	Bestimmung der vollständigen aeroben Abbaubarkeit .....	119
6.5.2	Überprüfung der Dehydrogenasenaktivität.....	125
<b>Literatur.....</b>		<b>127</b>
<b>Anhang .....</b>		<b>134</b>

**Abkürzungsverzeichnis**

AOX	Adsorbierbare organische Halogenverbindungen (an Aktivkohle)
BSB <sub>5</sub>	Biochemischer Sauerstoffbedarf in 5 Tagen
CB	2-Chlorbenzoesäure
CI	Chemische Ionisation
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
CP	Chlorpikrin
CPE	2-Chlorphenylessigsäure
DCA	Dichloressigsäure
DCB	2,4-Dichlorbenzoesäure
DCPE	2,4-Dichlorphenylessigsäure
EI	Elektronenstoßionisation
GC-MS	Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie
H	Henry-Konstante (in Pa x m <sup>3</sup> x mol <sup>-1</sup> )
HAA	Halogenierte Essigsäuren
HAN	Halogenierte Acetonitrile
HK	Haloketone
HT	Hefetrub
LHKW	Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe
M <sup>+</sup>	Molekül-Ion
MX	3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon
<i>m/z</i>	Masse-/Ladungsverhältnis
n.b.	nicht bestimmbar
n.n.	nicht nachweisbar
PES	Peroxyessigsäure
R/D	Reinigung und Desinfektion
RW	Rotwein
SIM	Single Ion Monitoring
SPE	Festphasen-Extraktion
SPME	Festphasen-Mikroextraktion
SV	Säulenvolumen
TBME	tert.-Butylmethylether
TCAA	Trichloracetaldehyd
TCP	1,1,1-Trichlorpropanon

TIC	Total Ion Chromatogram
TOC	Organisch gebundener Kohlenstoff
TMSH	Trimethylsulfoniumhydroxid
WW	Weißwein

## Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Abwasser-Belastung BSB<sub>5</sub> einiger Lebensmittelindustrien (nach Heiss 1996)
- Abb. 2: Organische Gesamtbelastung von Weinbauabwasser im Jahresverlauf (nach Müller 1993)
- Abb. 3: Wirkungsspektrum und pH-Abhängigkeit ausgewählter Desinfektionsmittel (verändert nach Wallhäuser 1995)
- Abb. 4: Schema der AOX-Fraktionierung
- Abb. 5: Vergleich der Bildung von Chloroform in Simulationsversuchen / Verwendung von Rotwein (RW) bzw. Weißwein (WW)
- Abb. 6: Massenspektrum von Tetrachlorethen (EI-Modus, 70 eV)
- Abb. 7: Vergleich der Bildung von Dichloressigsäure (DCA) in Simulationsversuchen mit Rotwein (RW)-, Weißwein (WW)- und Most-Lösungen (n = 3)
- Abb. 8: Massenspektrum von Trichloracetaldehyd (EI-Modus, 70 eV)
- Abb. 9: Vergleich der Bildung von Trichloracetaldehyd (TCAA) in Rotwein (RW)- und Weißwein (WW)-Lösungen bei einer Reaktionstemperatur von 4°C (n = 2)
- Abb. 10: Abhängigkeit der 1,1,1-Trichlorpropanon (TCP)-Bildung von der Konzentration an organischer Komponente
- Abb. 11: Bildung von 2-Chlorphenylelessigsäure (CPE) bei verschiedenen Temperaturen in Rotwein (RW)-, Weißwein (WW)- und Hefetrub (HT)-Lösungen (n = 4)
- Abb. 12: Massenspektrum von 2,4-Dichlorbenzoesäure (als Butylester) (CI-Modus Methan)
- Abb. 13: Gaschromatogramm der Phenole (TIC)
- Abb. 14: Massenspektrum von 2,4,6-Trichloranisol (EI-Modus, 70 eV)
- Abb. 15: Strukturformeln von 3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon (MX) (1) und 2,4-Dichlor-5-fluoracetophenon (2)
- Abb. 16: Reaktionsmechanismus der Chlorierung von Aminosäuren, Bildung von Aldehyden/Nitrilen (nach Nweke und Scully 1989)
- Abb. 17: Temperaturabhängigkeit der Umsetzung von Phenylalanin zu Phenylacetaldehyd (n = 2)
- Abb. 18: Umsetzungen von Phenylalanin zu Phenylacetonitril bei verschiedenen Konzentrationen an Natriumhypochlorit und Phenylalanin (n = 2)
- Abb. 19: Verhältnis zwischen Phenylacetonitril und Phenylacetaldehyd bei der Umsetzung von Phenylalanin / Abhängigkeit von der Konzentration an Natriumhypochlorit (n = 2)
- Abb. 20: Erfassung von Chloroform als AOX (n = 3)
- Abb. 21: Chloroform-Anteil in % an AOX in Abhängigkeit von der Natriumhypochlorit-Konzentration in Rotwein (RW)-, Weißwein (WW)- und Hefetrub-Lösungen
- Abb. 22: Anteile von Trichloracetaldehyd an AOX (RW: Rotwein; WW: Weißwein)

- Abb. 23: Zusammensetzung der AOX einer 1%-igen Hefetrub-Lösung ( $c(\text{NaOCl}) = 14,6 \text{ g/l}$ )
- Abb. 24: Zusammensetzung der AOX einer 1%-igen Hefetrub-Lösung ( $c(\text{NaOCl}) = 1,46 \text{ g/l}$ )
- Abb. 25: Zusammensetzung der AOX einer 20%-igen Rotwein-Lösung ( $c(\text{NaOCl}) = 14,6 \text{ g/l}$ )
- Abb. 26: Prozentuale Zusammensetzung der AOX einer 4%-igen Weißwein-Lösung
- Abb. 27: Chloroform-Konzentrationen in Zu- und Abläufen der Kläranlage Neustadt/Weinstraße
- Abb. 28: Chloroform-Konzentrationen im Ablauf der Kläranlage Niederkirchen während der Weinlese ( $n = 2$ )
- Abb. 29: Prozentuale Abnahme von Dichloressigsäure bei  $\text{pH} = 7$  im aeroben Abbau-Versuch (modifiziert nach DIN EN ISO 10707) ( $n = 3$ )
- Abb. 30: Prozentuale Abnahme von Dichloressigsäure bei verschiedenen pH-Werten im aeroben Abbau-Versuch (modifiziert nach DIN EN ISO 10707) ( $n = 3$ )
- Abb. 31: Prozentuale Abnahme von Trichloracetaldehyd im aeroben Abbau-Versuch – Vergleich der Bestimmung über Sauerstoffbedarf ( $n = 4$ ) und GC-MS ( $n = 4$ )
- Abb. 32: Prozentuale Abnahme von Trichloracetaldehyd bei verschiedenen pH-Werten im aeroben Abbau-Versuch (modifiziert nach DIN EN ISO 10707) ( $n = 4$ )
- Abb. 33: Massenspektrum von 2,4-Dichlorphenylelessigsäure (als Methylester, EI-Modus, 70 eV)
- Abb. 34: Konzentrationen von 2-Chlorphenylelessigsäure (CPE), 2,4-Dichlorphenylelessigsäure (DCPE) und 2-Chlorbenzoesäure (CB) in Abwässern eines Weinbaubetriebes nach Desinfektion mit Chlorbleichlauge
- Abb. 35: Konzentration an 2-Chlorphenylelessigsäure (CPE) in Zu- und Abläufen der Kläranlage Neustadt/Weinstraße
- Abb. 36: Konzentration an 2,4-Dichlorphenylelessigsäure (DCPE) in Zu- und Abläufen der Kläranlage Neustadt/Weinstraße
- Abb. 37: Konzentrationen an 2-Chlorphenylelessigsäure (CPE), 2,4-Dichlorphenylelessigsäure (DCPE), 2-Chlorbenzoesäure (CB) und 2,4-Dichlorbenzoesäure (DCB) in Abläufen der Kläranlage Niederkirchen ( $n = 2$ )
- Abb. 38: Schema des ECS 1200
- Abb. 39: Schema der Ion-Trap
- Abb. 40: Aufarbeitungsschema für halogenierte Essigsäuren (in Anlehnung an Knepper et al. 1999).
- Abb. 41: Prinzip der Derivatisierung von organischen Säuren mit Butylchlorformiat
- Abb. 42: Schema – Derivatisierung organischer Säuren (Methode modifiziert nach Töpfer 1999)
- Abb. 43: Massenspektrum von 4,5-Dichlorphthalsäure (als Butylester) (CI-Modus Methanol)
- Abb. 44: Abbau von Natriumacetat im aeroben Abbau-Versuch (modifiziert nach DIN EN ISO 10707)



## Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Konzentration an Natriumhypochlorit in handelsüblichen Desinfektionsmitteln
Tab. 2:	Analytische Kennzahlen der verwendeten Weine
Tab. 3:	Bildung von AOX (in µg/l) in den Modell-Lösungen zur Simulation von Reinigungsvorgängen bei 4°C
Tab. 4:	Bildung von AOX (in µg/l) in den Modell-Lösungen zur Simulation von Reinigungsvorgängen bei 30°C
Tab. 5:	AOX-Gehalte (in µg/l) in den Modell-Lösungen zur Simulation der AOX-Bildung in Abwassersammeltank und -kanal
Tab. 6:	Bildung von AOX bei verschiedenen PES-Konzentrationen (c (NaCl) = 0,2 g/l, T = 30°C, t = 24 h)
Tab. 7:	Bildung von AOX bei verschiedenen PES-Konzentrationen (c (NaCl) = 0,2 g/l, T > 100°C, t = 5 min)
Tab. 8:	Bildung von AOX bei verschiedenen NaCl-Konzentrationen (c (PES) = 1,824 g/l, T > 100°C, t = 5 min)
Tab. 9:	Charakteristika einzelner Fraktionen der AOX-Festphasenfractionierung
Tab. 10:	Prozentuale Verteilung der AOX nach Festphasenfractionierung
Tab. 11:	Retentionszeiten und Massenfragmente <i>m/z</i> von leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen / „Headspace“-Technik
Tab. 12:	Abhängigkeit der Tetrachlorkohlenstoff-Bildung von Temperatur und organischer Belastung
Tab. 13:	Retentionszeiten und MS-Daten halogenerter Essigsäuren (als Methylester)
Tab. 14:	Retentionszeiten und Massenfragmente von halogenierten Aldehyden, Ketonen, Acetonitrilen und Chlorpikrin
Tab. 15:	Bildung von Trichloracetaldehyd (TCAA) in Rotwein (RW)-Lösungen / Abhängigkeit von Natriumhypochlorit-Konzentration und Temperatur
Tab. 16:	Retentionszeiten und Massenfragmente von aromatischen Säuren (als Methylester)
Tab. 17:	Bildung von 2-Chlorphenylessigsäure (CPE) in Modell-Lösungen
Tab. 18:	Geruchsschwellen / -qualität von Chloranisolen in Flüssigkeiten
Tab. 19:	Aminosäure-Gehalte im Most verschiedener Rebsorten (Mittelwerte 1999-2004) <sup>1</sup> (nach Schwab 2005)
Tab. 20:	Retentionszeiten und Massenfragmente unchlorierter Aminosäuren (als Butylester)
Tab. 21:	Erfassung von Dichloressigsäure als AOX
Tab. 22:	Erfassung von Trichloracetaldehyd als AOX
Tab. 23:	Chlorierte Benzoesäuren in Proben der Kläranlage Neustadt/Weinstraße
Tab. 24:	Zusammensetzung der Desinfektions-Nebenprodukte im Abwasser eines Weinbau-Betriebes nach Desinfektion mit Chlorbleichlauge

- Tab. 25: GC-MS-Methode – LHKW / „Headspace“-Technik
- Tab. 26: Probenaufgabe mittels „Purge and Trap“-Technik
- Tab. 27: GC-MS-Methode – Halogenierte Essigsäuren (als Methylester)
- Tab. 28: GC-MS-Bedingungen – Bestimmung halogener Acetonitrile
- Tab. 29: Retentionszeiten und Massenfragmente von halogenierten Aldehyden, Ketonen, Acetonitrilen und Chlorkiprin (CI-Modus / Methan)
- Tab. 30: GC-MS-Methode – Halogenierte aromatische Säuren
- Tab. 31: GC-MS-Methode – Halogenierte Phenole, Toluole und 2-Chloranilin
- Tab. 32: Retentionszeiten und Massenfragmente phenolischer Substanzen
- Tab. 33: GC-MS-Methode – Halogenierte Anisole
- Tab. 34: GC-MS-Methode – 3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon
- Tab. 35: GC-MS-Methode – Untersuchung von Aminosäuren (als Butylester)
- Tab. 36: GC-MS-Methoden – Untersuchungen zum Verhalten von Aminosäuren im Rahmen der Desinfektion
- Tab. 37: GC-MS-Methoden – Bestimmung von Phenylacetaldehyd und Phenylacetonitril

# 1 Einleitung

## 1.1 Thematische Einführung

Um bei der Weinbereitung qualitativ einwandfreie Produkte zu erzeugen und Beeinträchtigungen durch Fehlgärungen zu minimieren, sind entsprechende Desinfektionsmaßnahmen in der Kellerei eine wichtige Voraussetzung. Die Verwendung hypochlorithaltiger Reinigungs- und Desinfektionsmittel im Weinbau ist aufgrund ihrer einfachen Handhabung und des Preises verbreitet. Dabei stehen aktivchlorhaltige Reinigungs- und Desinfektionsmittel seit längerer Zeit in der Diskussion, weil ihnen die Bildung von adsorbierbaren organischen Halogenverbindungen (AOX) zugesprochen wird. Dieser Parameter steht in einer Reihe mit den Parametern „Chemischer Sauerstoffbedarf“ (CSB), „Biochemischer Sauerstoffbedarf“ (BSB<sub>5</sub>) und „Totaler Organischer Kohlenstoff-Gehalt“ (TOC) zur Beurteilung der Qualität von Gewässern und Abwasser.

### 1.1.1 Reinigung und Desinfektion in der Weinbereitung

Bei der Herstellung von 1000 Litern Wein muss von einer spezifischen Abwasserbelastung von 20 kg O<sub>2</sub> BSB<sub>5</sub> ausgegangen werden, die der Tagesbelastung durch 330 Einwohner entspricht. Das nur geringfügig über 1 liegende CSB/BSB<sub>5</sub>-Verhältnis weist darauf hin, dass die Abwasserfrachten bei der Herstellung von Wein überwiegend aus biologisch leicht abbaubaren Materialien bestehen (Heiss 1996). Bei Korrelation der spezifischen Abwasserbelastung durch die Weinbereitung mit der produzierten Menge ergibt sich eine jährliche Abwasserbelastung von ungefähr  $7\text{--}9 \times 10^3 \text{ t O}_2/\text{a BSB}_5$  in Deutschland (Abb. 1).

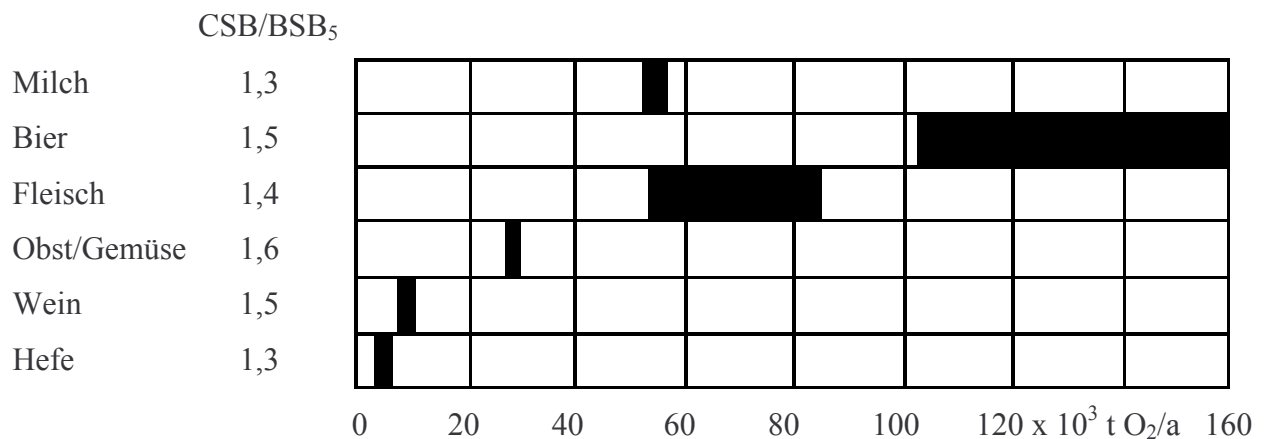


Abb. 1: Abwasser-Belastung BSB<sub>5</sub> einiger Lebensmittelindustrien (nach Heiss 1996)

Dabei ist zu berücksichtigen, dass die auftretende Abwasserbelastung durch hohe organische Frachten (Hefe, Trub, Schwemmwasser mit Tresterbestandteilen) stoßweise sowie örtlich und zeitlich konzentriert anfällt (Abb. 2). Als wichtige Verfahrensschritte der Weinbereitung sind die Traubenlese, Keltern, Mostklärung, 1./2. Abstich, Reinigung und Sterilisation der Flaschen und Flaschenfüllung zu nennen. Die im Rahmen der Reinigung und Desinfektion entstehenden Abwässer können insbesondere während der Traubenlese und des Abstiches zur Gefährdung und Störung von biologischen Abwasserreinigungsstufen in kommunalen und betrieblichen Kläranlagen führen.

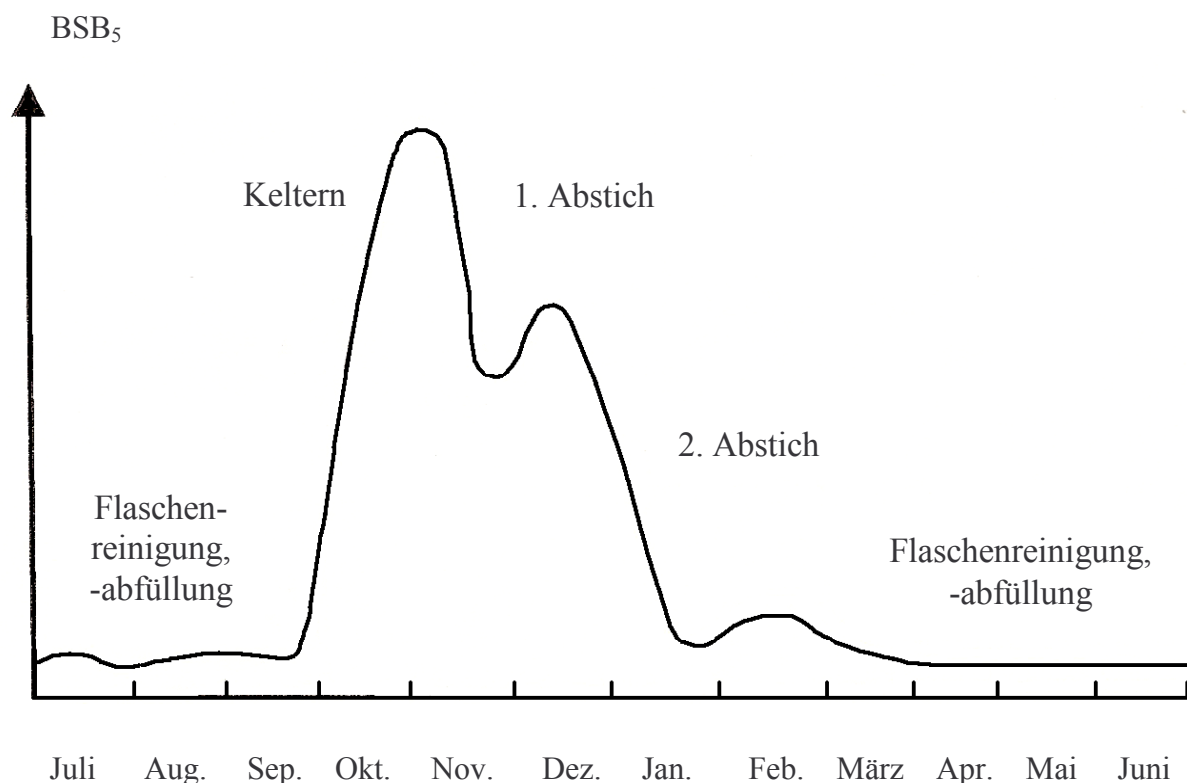


Abb. 2: Organische Gesamtbelastung von Weinbauabwasser im Jahresverlauf (nach Müller 1993)

Aus ökologischer Sicht stellt die Entstehung halogenorganischer Nebenprodukte während der Desinfektion ein großes Problem dar. Bei Einsatz aktivchlorhaltiger Desinfektionsmittel (Natriumhypochlorit, selten Calciumhypochlorit, Chlordioxid, Chloramin T, Chlorabspalter) entstehen chlorierte Nebenprodukte, die mit dem Summenparameter AOX erfasst werden.

Bei den Hauptinhaltsstoffen der verwendeten Reinigungsmittel handelt es sich in den meisten Fällen um Tenside (z.B. Alkylsulfonate, Amphotenside), Komplexbildner (z.B. Ethylendiamintetraacetat EDTA, Nitrilotriacetat NTA, Phosphate, Phosphonsäuren,

Citronensäure), Alkalien (z.B. Natrium-, Kaliumhydroxid, Carbonate), Säuren (z.B. Salz-, Schwefel-, Phosphor-, Salpetersäure) und Lösungsvermittler (z.B. Propanol, Harnstoff).

### 1.1.2 Definition von AOX

Unter AOX wird ein Summenparameter in der Wasseranalytik zur Erfassung der an Aktivkohle adsorbierbaren organischen Chlor-, Brom- und Iod-Verbindungen verstanden. Seine Konzentration wird in Mikrogramm/Liter [ $\mu\text{g/l}$ ] (berechnet als Chlorid) angegeben. Gemäß der Deutschen Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung handelt es sich bei AOX um eine analytische Konvention. Das Ergebnis ist ein Parameter, der zur Kontrolle der Wasserbeschaffenheit verwendet wird. Derzeit werden unter AOX sämtliche adsorbierbaren organischen Halogenverbindungen, sowohl toxische als auch untoxische Stoffe, erfasst. Es kann davon ausgegangen werden, dass bei Konzentrationen über  $60 \mu\text{g/l}$  spezifische Emissionsquellen (z.B. Bleichungsprozesse [Papierindustrie], Reinigungs- und Desinfektionsmittel) vorhanden sind. In Oberflächengewässern finden sich normalerweise Konzentrationen an AOX zwischen  $5$  und  $50 \mu\text{g/l}$  (Grimvall 1999). In Weinbauabwasser konnten AOX-Gehalte von  $50$ - $400 \mu\text{g/l}$  für alltägliche Abwässer und bis zu  $33000 \mu\text{g/l}$  bei Einsatz von Natriumhypochlorit gemessen werden (Heil 1999). Es ist nicht bekannt, um welche Verbindungen es sich handelt und es können keine Aussagen getroffen werden, welche Konsequenzen aus der Entstehung dieser Verbindungen resultieren. Eine Identifizierung von Einzelverbindungen und Aufklärung der Zusammensetzung des Summenparameters AOX ist bisher nicht erfolgt. Die Festsetzung von Grenzwerten für den Summenparameter AOX ist schwierig, da es nur wenige Informationen über die erfassten Einzelsubstanzen gibt. Dieses verhindert die Beurteilung der Problematik durch die im Rahmen der Desinfektion im Weinbau entstehenden AOX. Eine Verknüpfung mit Ergebnissen anderer Industrien, in denen aktivchlorhaltige Präparate eingesetzt werden und AOX entstehen (z.B. Bleichmittel in der Papierindustrie), ist aufgrund der unterschiedlichen Ausgangsverbindungen von AOX nicht möglich.

Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, dass keine Korrelation zwischen AOX und Wirkkonzentration bzw. Fischtoxizität oder Toxizität gegenüber Bakterien, Algen und Daphnien erkennbar ist (ATV-Arbeitsgruppe 1993). Die Bestimmung des Summenparameters AOX lässt weiterhin keine Rückschlüsse zu, ob die gemessenen Konzentrationen von ökologisch bedenklichen Substanzen (z.B. Trihalogenmethane, halogenierte Phenole, PCBs,

Dioxine etc.) oder unproblematischen Verbindungen (z.B. hochmolekulare halogenierte Huminsäuren und Cellulosen) verursacht werden.

Bisher konnten in anderen Einsatzgebieten aktivchlorhaltiger Präparate über 250 Nebenprodukte der Desinfektion identifiziert werden. Die wichtigsten Substanzklassen stellen die leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffe (LHKW, z.B. Chloroform), halogenierten Essigsäuren (HAA, z.B. Dichloressigsäure), Haloacetonitrile (HAN, z.B. Chloracetonitril), Haloketone (HK, z.B. 1,1,1-Trichlorpropanon) und halogenierten Phenole (z.B. 2-Chlorphenol) dar (Sadiq und Rodriguez 2004). Entsprechende Untersuchungen wurden vor allem im Bereich der Papierindustrie durchgeführt. Dabei wurde festgestellt, dass sich Chloroform als wesentliches Nebenprodukt bildet. Des Weiteren war die Bildung von Dichloressigsäure und Trichloressigsäure nachweisbar. Trihalogenmethane und halogenierte Essigsäuren besaßen einen Anteil an AOX zwischen 6% und 45% (Juuti et al. 1996). Ähnliche Ergebnisse wurden in Studien über die Bildung von Nebenprodukten der Chlorierung in Oberflächengewässern erhalten, in denen neben Chloroform und Dichloressigsäure weitere Verbindungen dieser Substanzklassen identifiziert wurden (Kim et al. 2003, Nikolaou et al. 2004). Untersuchungen von Abwässern aus Fabriken der Chlorchemie haben gezeigt, dass ein Quotient Einzelstoff/AOX nicht angegeben werden kann und die AOX in der Regel wesentlich über der Summe der identifizierbaren halogenorganischen Verbindungen liegen (Laschka et al. 1996).

### **1.1.3 Desinfektionsmittel in der Weinbereitung**

Zur Desinfektion werden Präparate eingesetzt, die als Hauptinhaltsstoffe Wasserstoffperoxid und/oder Peroxyessigsäure (PES) (oft in Kombination mit Essigsäure) enthalten. Aktivchlorhaltige Präparate finden vor allem bei der Desinfektion von Lese- und Spritzgeräten, kellertechnischen Geräten, Fußböden, Spülstationen, Oberflächen und Außentanks Anwendung. Die Verwendung von UV und Ozon ist in der Weinbereitung nicht verbreitet.

Sowohl aktivchlorhaltige Desinfektionsmittel als auch Peroxyessigsäure besitzen eine gute Wirkung gegen Bakteriophagen, Viren, grampositive und -negative Bakterien, Sporenbildner, Hefen und Schimmelpilze. Während Peroxyessigsäure ein optimales Wirkungsspektrum im sauren pH-Bereich zeigt und ab pH-Werten über acht keine desinfizierende Wirkung besitzt, hat Natriumhypochlorit in schwach alkalischem Milieu (pH 8-12) das beste Wirkungsspektrum und bei Verwendung mit Natronlauge eine zusätzliche reinigende

Wirkung. Aktivchlorhaltige Desinfektionsmittel werden nicht bei Temperaturen über 40°C eingesetzt und können rostfreien Stahl korrodieren. Eine mechanische Wirkung ist während der Desinfektion nicht erforderlich. Abb. 3 gibt einen Überblick über verschiedene Wirkstoffe zur Desinfektion.

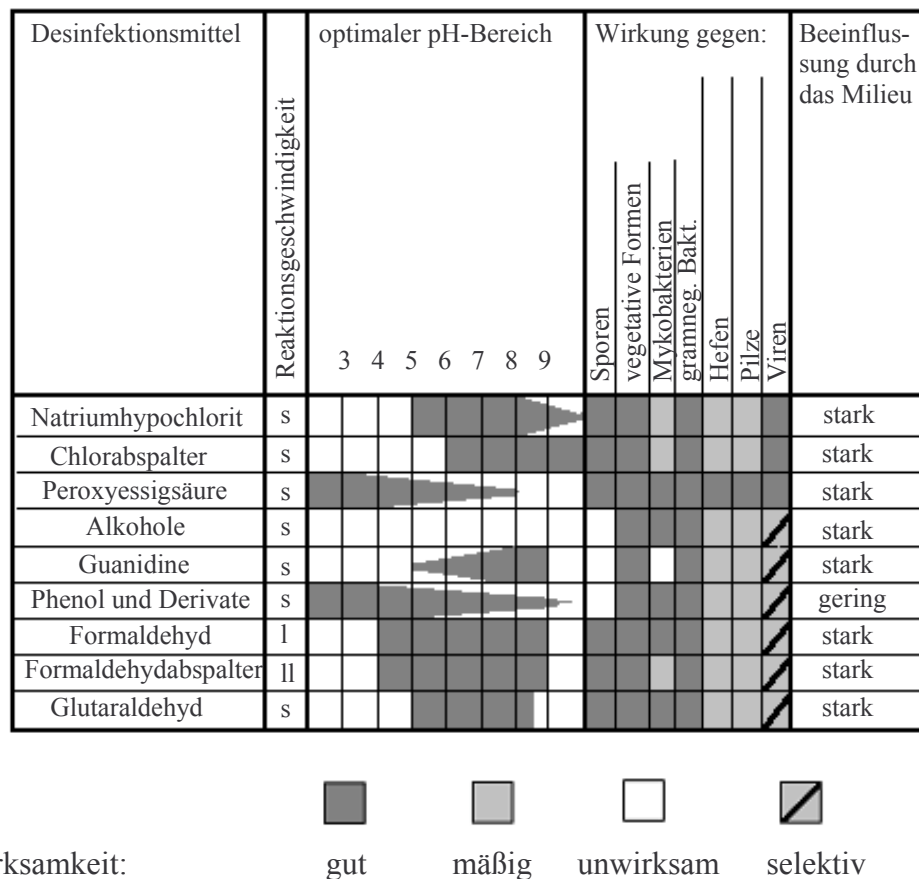


Abb. 3: Wirkungsspektrum und pH-Abhängigkeit ausgewählter Desinfektionsmittel (verändert nach Wallhäusser 1995)

Die Desinfektion mit Chlorbleichlauge (industrielle Produktion seit 1820 / „Eau de Labarraque“) wurde seit Mitte des 19. Jahrhunderts durchgeführt und führte zu einer erheblichen Verbesserung der hygienischen Standards. Hypochlorige Säure, die bei der Einleitung von Chlor in Wasser entsteht, besitzt einen  $pK_s$ -Wert von 7,5. Die Darstellung von Natriumhypochlorit gelingt durch die Einleitung von Chlorgas in Natronlauge. Diese Lösung ist im Dunkeln aufzubewahren, da Natriumhypochlorit im Licht zerfällt. Auch die Bildung von Perchloraten ist möglich.

Hypochlorige Säure ist ein starkes Oxidationsmittel ( $\text{HOCl} \leftrightarrow \text{HCl} + \text{O}$ ,  $E_0 (\text{Cl}^-/\text{HOCl}) = +1,49 \text{ V}$ ), insbesondere in saurer Lösung ist das Oxidationsvermögen groß. Hypochlorige Säure besitzt ein großes Chlorierungsvermögen. Bekannte Beispiele sind die Haloform-Reaktion, die Überführung von Chloriden in Chlor, Ammoniak in Chloramin und Cyanid in Chlorcyan. Die Peroxyessigsäure (PES) wird seit ca. 100 Jahren als Desinfektionsmittel verwendet. Erste Untersuchungen zur Wirkungsweise von PES reichen in das Jahr 1902 zurück (Freer und Novy 1902). Peroxyessigsäure ist eine farblose, stechend riechende Flüssigkeit, die sich chemisch von der Essigsäure ableitet. In höheren Konzentrationen kann sich Peroxyessigsäure explosiv zersetzen. Sie bildet sich aus Wasserstoffperoxid und konzentrierter Essigsäure (unter Verwendung eines Katalysators, z.B. Schwefelsäure). Es entsteht ein Gleichgewicht zwischen Peroxyessigsäure/Wasser und Essigsäure/Wasserstoffperoxid. Ob sich bei Einsatz von Peroxyessigsäure in Gegenwart von Chlorid-Ionen AOX bilden, konnte bisher nicht endgültig geklärt werden. Bei Vorhandensein von Chloriden in einer Peroxyessigsäure-Lösung sollte prinzipiell eine Oxidation der Chlorid-Ionen (Redoxpotential  $E_0 (\text{Cl}^-/\text{Cl}_2) = +1,358 \text{ V}$ ) und daraus folgend Chlorierungsreaktionen durch entstehendes Hypochlorit möglich sein. Verschiedene Untersuchungen deuten jedoch darauf hin, dass der Einsatz von PES als Desinfektionsmittel (in Bezug auf den Aspekt AOX-Bildung) unproblematisch ist (Kitis 2004). Es war nicht möglich, mit Hilfe von PES Chlorid zu Hypochlorit zu oxidieren (Booth und Lester 1995). Im Gegensatz zur Behandlung mit Hypochlorit konnte kein signifikanter Anstieg der AOX-Konzentrationen in Abwässern bei der Behandlung mit PES beobachtet werden (Veschetti et al. 2003). Jedoch kann die Bildung von AOX über andere Reaktionswege, z.B. die Entstehung von PES-induzierten freien Chlor-Radikalen und daraus folgend halogenorganischen Verbindungen, nicht ausgeschlossen werden. Entsprechende Untersuchungen unter Verwendung von Phenol als Radikalfänger (Reaktion zu substituierten Chlorphenolen) verstärken diese Annahme (Booth und Lester 1995). Ob PES unter den Bedingungen der Desinfektion in der Weinbereitung unter dem Aspekt der AOX-Bildung eine vollkommen unproblematische Alternative zu Natriumhypochlorit darstellt, muss noch untersucht werden.

#### 1.1.4 Gesetzliche Rahmenbedingungen

Die Problematik einer Belastung der Umwelt durch toxische, persistente und bioakkumulierende Verbindungen wird zunehmend vom Gesetzgeber berücksichtigt. Es wurden verschiedene Gesetze und Verordnungen zum Schutz von Mensch und Umwelt



erlassen, die direkt und indirekt den Weinbau betreffen. Außerdem spielt die Sicherung der Qualität des Lebensmittels Wein durch entsprechende gesetzliche Vorgaben eine wesentliche Rolle. In diesem Zusammenhang sind unter anderem das Infektionsschutzgesetz, die Trinkwasserverordnung, die Lebensmittelhygiene-Verordnung, die Lebensmitteltransportbehälter-Verordnung und das Weingesetz zu nennen. So werden im Abschnitt 7 des Infektionsschutzgesetzes (IfSG)<sup>1</sup> Anforderungen an Wasser für den menschlichen Gebrauch und die Beseitigung von Abwasser gestellt. In der Trinkwasserverordnung (vgl. Anlage 2 zu § 6 Abs. 2 TrinkwV 2001)<sup>2</sup> werden Grenzwerte für die den AOX zugehörigen Chlorkohlenwasserstoffe wie 1,2-Dichlorethan, Tetrachlorethen, Trichlorethen und Trihalogenmethane festgelegt. Hygienische Anforderungen für das gewerbsmäßige Herstellen, Behandeln und Inverkehrbringen von Lebensmitteln werden in der Lebensmittelhygiene-Verordnung genannt. Vor dem Hintergrund eines niedrigeren gesundheitlichen Gefährdungspotentiales von Wein (Vermeidung pathogener Keime in Wein aufgrund keimhemmender Wirkung von Alkohol, Kohlensäure, Fruchtsäuren) und großer struktureller Unterschiede der Weinbaubetriebe (Familienbetriebe, Großkellereien) wurden Leitlinien für eine gute Hygienepaxis in der Weinwirtschaft abgeleitet, in denen allgemeine Hygieneanforderungen, betriebseigene Maßnahmen und Kontrollen sowie Maßnahmen bezüglich Personalhygiene und -unterweisung vorgeschlagen wurden. So sind Reinigungs- und Desinfektionsmittel nur im Bedarfsfall und gemäß den gesetzlichen Regelungen bzw. den Herstellerangaben anzuwenden, z.B. bei der Kellerbodenreinigung nach der Herbstkampagne. Vor und nach der Anwendung folgt stets eine gründliche Spülung mit Wasser von Trinkwasserqualität (Forum der Deutschen Weinwirtschaft 2001). In den §§ 14 und 16 des Weingesetzes<sup>3</sup> wird das Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft ermächtigt, bestimmte Voraussetzungen an die Beschaffenheit von Behältnissen und Räumen sowie die Betriebshygiene zu stellen, aus denen jedoch keine Beeinträchtigung der Umwelt resultieren darf. Im Wasserhaushaltsgesetz werden Rahmenbedingungen gestellt, um „die Gewässer als Bestandteil des Naturhaushaltes und als Lebensraum für Tiere und Pflanzen zu sichern. ...Verunreinigungen des Wassers oder eine sonstige nachteilige Veränderung seiner Eigenschaften (sind) zu verhüten“ (vgl. § 1a Abs. 1,

---

<sup>1</sup> IfSG, BGBl. I 2000 S. 1045, zuletzt geändert durch Art. 57 Neunte Zuständigkeitsanpassungsverordnung, BGBl. I 2006 S. 2407

<sup>2</sup> TrinkwV 2001, BGBl. I 2001 S. 959, geändert durch Art. 363 Neunte Zuständigkeitsanpassungsverordnung, BGBl. I 2006 S. 2407

<sup>3</sup> Weingesetz, BGBl. I 2001 S. 985, zuletzt geändert durch Art. 4 Gesetz zur Neuordnung des Lebensmittel- und Fütterrechtes, BGBl. I 2005 S. 2618

2 Wasserhaushaltsgesetz)<sup>4</sup>. Im Abwasserabgabengesetz wird für organische Halogenverbindungen als adsorbierbare organisch gebundene Halogene (AOX) ein Schwellenwert von 100 µg/l und 10 kg Jahresmenge als Schwellenwert nach Konzentration und Jahresmenge festgesetzt, eine Schadeinheit entspricht 2 kg Halogen, berechnet als organisch gebundenes Chlor (Abgabesatz 35,79 €/Schadeinheit) (vgl. Anlage Nr. 4 zu § 3 AbwAG)<sup>5</sup>. Das Ausbringen von Klärschlamm auf landwirtschaftlich oder gärtnerisch genutzte Böden ist verboten, wenn der AOX über 500 mg/kg Schlamm-Trockenmasse liegt (vgl. § 4 Abs. 11 AbfKlärV)<sup>6</sup>. Für Abwässer aus der Weinbereitung, die ausschließlich bei Einsatz von Reinigungs- und Desinfektionsmitteln gemäß der von den staatlichen Lehranstalten veröffentlichten Positivliste anfallen, hat der Gesetzgeber die Möglichkeit einer „Landbaulichen Verwertung“ vorgesehen (vgl. MinBl. Rheinland-Pfalz 1996)<sup>7</sup>. Die Einleitung Weinbaubetrieblicher Abwässer in das Kanalnetz ist in diesem Fall in vollem Umfang auszuschließen. In der entsprechenden Positivliste werden aktivchlorhaltige Desinfektionsmittel ausgeschlossen, was diese Art der Abwasserbeseitigung für herkömmliche Weinbauabwässer stark einschränkt. Die Vermeidung der Bildung von AOX in der Weinbereitung sollte entsprechend den rechtlichen Rahmenbedingungen vermieden werden, was eine genauere Untersuchung dieser Verbindungen notwendig macht.

---

<sup>4</sup> WHG, BGBl. I 1957 S. 1110 u. 1386, in der Bekanntmachung der Neufassung, BGBl. I 2002 S. 3245, zuletzt geändert durch Verordnung, BGBl. I 2005 S. 1746

<sup>5</sup> AbwAG, BGBl. I 1976 S. 2721, berichtigt S. 3007, in der Bekanntmachung der Neufassung, BGBl. I 2005 S. 114

<sup>6</sup> AbfKlärV, BGBl. I 1992, S. 912, zuletzt geändert durch Art. 4 Verordnung, BGBl. I 2006 S. 2298

<sup>7</sup> Rundschreiben des Ministeriums für Umwelt und Forsten, MinBl. Landesregierung Rheinland-Pfalz 1996, S. 345

## 2 Problemstellung

In Rheinland-Pfalz wurde im Jahr 2005 auf einer Fläche von 63798 ha Wein angebaut und 5,88 Millionen Hektoliter Traubenmost geerntet (Buhrmester et al. 2006). In den Weinbau-Betrieben werden überwiegend Desinfektionsmittel mit den Wirkstoffen Natriumhypochlorit und Peroxyessigsäure eingesetzt und es fallen insbesondere während der Weinlese große Mengen Abwasser an, die mit einer Vielzahl organischer Verbindungen belastet sind. Die Entstehung halogenorganischer Substanzen, die als adsorbierbare organische Halogenverbindungen (AOX) erfasst werden, wurde im Bereich des Weinbaus bisher nur unzureichend untersucht. Die punktuellen AOX-Einleitungen im Einzugsgebiet des Rheins lagen im Jahr 1996 bei 393 Tonnen, von denen 147 Tonnen durch kommunale Kläranlagen zugeführt wurden, in die Abwässer aus der Weinbereitung gelangen (Böhm et al. 1999). Wie stark diese Belastung mit AOX durch den Weinbau verursacht wird, muss durch Untersuchungen zur Bildung von Nebenprodukten der Desinfektion während der Weinbereitung geprüft werden. Es ist bisher nicht bekannt, welche Substanzen durch den Summenparameter AOX erfasst werden. Bei diesen Verbindungen kann es sich um unproblematische, aber auch bedenkliche Substanzen handeln, die beispielsweise toxische Eigenschaften besitzen. Eine nachhaltige Bewertung dieser Verbindungen ist nicht möglich. Störungen in den Kläranlagen während der Weinkampagne, die durch überhöhte Nährstoff-Frachten begründet werden, können als bedenkliches Zeichen einer Belastung durch umweltrelevante Halogenverbindungen während der Weinlese interpretiert werden. Auch der mögliche Einfluss geringster Rückstände an Desinfektionsmitteln auf den Wein wurde bisher nicht ausreichend untersucht. Beispiele für AOX-Verbindungen, die in Wein nachgewiesen wurden, sind chlorierte Anisole (Trichloranisol als Verursacher des Korktons) und Chloroform-Rückstände.

Ziel dieser Arbeit ist die Identifizierung und Quantifizierung von Nebenprodukten der Desinfektion in der Weinbereitung bei Einsatz von Natriumhypochlorit und Peroxyessigsäure und die Bewertung ihrer möglichen Auswirkungen auf die Gewässerqualität und den Wein. Untersuchungen zum AOX-Bildungspotential in Modell-Lösungen stellen einen praxisnahen Ansatz dar, um primär die Bildung von AOX bei Einsatz von Natriumhypochlorit beurteilen zu können und zu untersuchen, ob die Anwendung von Peroxyessigsäure eine umweltfreundlichere und unbedenkliche Alternative zur Desinfektion darstellt. Ein Schwerpunkt der Arbeit ist die Identifizierung und Quantifizierung entstehender Nebenprodukte in diesen Versuchen durch Anwendung und Optimierung geeigneter

analytischer Methoden. In diesem Zusammenhang sollte auch untersucht werden, ob sich während der Desinfektion Verbindungen bilden, die eine direkte Auswirkung auf das Aroma oder die Verkehrsfähigkeit von Wein haben können. Aus den Untersuchungen mit Modell-Lösungen zur Darstellung der AOX-Bildung werden Informationen gewonnen, welche Verbindungen bei der Desinfektion in der Weinbereitung entstehen. Die Ergebnisse können auch in anderen Bereichen der Lebensmittelherstellung, z.B. bei der Produktion von Fruchtsäften, von Interesse sein. Die Frage, ob sich diese Substanzen auch im Weinkeller unter realen Bedingungen bilden, bleibt durch die Modell-Versuche unbeantwortet. Daher ist es wichtig, Proben aus einem Weinbau-Betrieb zu untersuchen, um einen Vergleich mit den Ergebnissen der Modell-Versuche zu ermöglichen. Die Auswirkungen der Weinbereitung in Rheinland-Pfalz auf die Gewässerqualität können jedoch auch durch diese Untersuchungen nicht exakt ermittelt werden. Der tatsächliche Eintrag von Nebenprodukten der Desinfektion in die Gewässer muss durch die Beprobung von Kläranlagen während der Weinlese festgestellt werden. Unter Berücksichtigung der ökotoxikologischen Eigenschaften und Untersuchungen zum Abbauverhalten kann eine neue Bewertung des Summenparameters AOX erfolgen. Die Ergebnisse dieser Arbeit sollen zu einem praxisgerechten und umweltschonenderem Einsatz von Desinfektionsmitteln im Weinbau führen, den Eintrag halogenorganischer Verbindungen reduzieren und einen Beitrag zur Qualitätssicherung im Weinbau leisten.

### 3 Ergebnisse und Diskussion

#### 3.1 Darstellung von AOX-Bildungssituationen

Die Bildung von AOX bei der Weinbereitung durch Desinfektionsmittel wurde untersucht. Es wurden verschiedene Simulationsversuche im Labor durchgeführt, um das AOX-Bildungspotential von Natriumhypochlorit und Peroxyessigsäure festzustellen.

##### 3.1.1 Bildung von AOX bei Verwendung von Natriumhypochlorit

In Tab. 1 sind Beispiele für die Konzentrationen an Natriumhypochlorit einiger Reinigungs- und Desinfektionsmittel in der Weinbereitung angegeben, an denen sich die Versuche zur Bildung von AOX orientierten.

Tab. 1: Konzentration an Natriumhypochlorit in handelsüblichen Desinfektionsmitteln

Desinfektionsmittel	Konzentration NaOCl im Reinigungsmittel [g/l]	Anwendungskonzentration NaOCl [g/l]
ASiRAL Bodenreiniger	89	4,4
ASiRAL Pressenreiniger	44	2,2
SIHA Porenfrei	128	0,6
Divo CIP	45	1,4
Divomil DC	133	4,0
Calgonit 6010	47	0,9
Sporex flüssig	139	0,3

##### 3.1.1.1 Simulierung von Reinigungsvorgängen

Zur Simulierung von AOX-Bildungssituationen während des Reinigungsvorganges wurden die normalerweise in Abwasser vorkommenden Konzentrationen an Wein, Most und Hefetrub erhöht (Konzentrationsbereiche von 4% bis 20% Wein/Most, 1% bis 8% Hefetrub), um die Reinigungsverfahren möglichst realitätsnah darzustellen. Danach wurde Natriumhypochlorit in üblichen Anwendungskonzentrationen bis zu 14,6 g/l zugegeben. Die Reaktion wurde nach einer festgesetzten Zeit durch Zugabe von Natriumsulfit abgebrochen. Die Reaktionen wurden bei den entstehenden pH-Werten zwischen 4,0 und 9,5 durchgeführt. Als

Reaktionstemperaturen wurden  $T = 4^{\circ}\text{C}$  (Simulierung der Kellertemperatur) und  $T = 30^{\circ}\text{C}$  (Simulierung einer Reinigung mit warmen Wasser) gewählt. Da sich der Hauptteil der AOX in den ersten Minuten nach Kontakt zwischen Natriumhypochlorit und den organischen Substanzen bildet (Müller und Heil 2000), wurde eine Reaktionszeit von 45 min gewählt. Bei den verwendeten Weinen handelte es sich sowohl um einen Rotwein (Portugieser trocken, Mußbacher Eselshaut 2002) als auch um einen Weißwein (Riesling Kabinett, Gimmeldinger Meerspinne 1999). Most und Hefetrub wurden vom Johannitergut mit Staatsweingut Neustadt bezogen. Die chemische Zusammensetzung der verwendeten Weine wird in Tab. 2 genannt.

Tab. 2: Analytische Kennzahlen der verwendeten Weine

	<b>Riesling</b>	<b>Portugieser</b>
Gewichtsverhältnis 20/20°C	0,999	0,995
Alkohol [g/l]	82,9	94,7
Alkohol [%vol]	10,5	12,0
Gesamtextrakt [g/l]	31,7	20,4
Restzucker [g/l]	22,4	3,6
pH-Wert	3,5	3,6
Gesamtsäure (als Weinsäure) [g/l]	7,2	4,8
gesamtes $\text{SO}_2$ [mg/l]	150,7	155,9
Chemischer Sauerstoffbedarf [g/l]	275,0	285,6

Der wesentliche Unterschied zwischen Wein und Most sind die aufgrund der alkoholischen Gärung bedingten unterschiedlichen Alkohol- und Zuckergehalte. Der Zuckergehalt im Most betrug 120-160 g/l, der Gehalt an organischen Säuren 6-10 g/l und der Trocknungsrückstand 156,9 g/l bei einem chemischen Sauerstoffbedarf von 240,0 g/l. Der Hefetrub unterschied sich grundlegend vom Most und Wein durch einen erhöhten Anteil an Stickstoff-Verbindungen (38% bis 60% der Trockensubstanz TS, davon 90% Proteine und 10% freie Aminosäuren), Lipiden (4% bis 10% der TS) und Mineralstoffen (5% bis 10% der TS) bei einem Wassergehalt von 78,1%. Die wesentlichen Kohlenhydrate waren Glucane und Glykogen (3% bis 15% der TS). Der chemische Sauerstoffbedarf betrug 606,3 g/l.

In den 4%-igen Rotwein-Lösungen wurden bei  $4^{\circ}\text{C}$  AOX-Konzentrationen bis zu 7952  $\mu\text{g/l}$  und in den 20%-igen Lösungen Konzentrationen bis zu 17218  $\mu\text{g/l}$  gemessen. Bei Reinigungsvorgängen und einer Reaktionstemperatur von  $30^{\circ}\text{C}$  betrugen die AOX-Werte in diesen Lösungen bis zu 21519  $\mu\text{g/l}$  (RW 4%) und 59390  $\mu\text{g/l}$  (RW 20%). In Tab. 3 sind die AOX-Gehalte der Lösungen nach Behandlung mit Natriumhypochlorit bei  $4^{\circ}\text{C}$  angegeben,

die Konzentrationen an AOX bei der Reaktionstemperatur 30°C finden sich in Tab. 4. Bei Simulation von Reinigungsvorgängen im Weinkeller fanden bei einer geringen Natriumhypochlorit-Konzentration von 0,365 g/l hohe Umsetzungen zu AOX statt, während die Umsetzungen bei Erhöhung der Natriumhypochlorit-Konzentration geringer sind. In den Modell-Lösungen mit Rotwein lagen die Umsetzungen von Natriumhypochlorit zu AOX unterhalb 0,1% bis zu 3,3% bei 4°C, während bei Simulation der Reinigungsvorgänge eine höhere Umsetzung zu AOX zwischen 0,3% und 11% feststellbar war.

Tab. 3: Bildung von AOX (in µg/l) in den Modell-Lösungen zur Simulation von Reinigungsvorgängen bei 4°C

Org. Komp. [%]	c (NaOCl) [g/l]			
	0,365	1,46	3,65	14,6
RW 4%	520,3	1083,8	3695,6	7951,7
RW 10%	2881,5	5573,3	4389,6	15626,4
RW 20%	5769,6	16733,5	17063,6	17218,2
WW 4%	379,9	783,4	1882,246	1930,0
WW 10%	1884,5	2319,7	3904,5	4073,4
WW 20%	2434,9	6534,2	15719,4	18799,5
Most 4%	2243,6	2321,4	3341,6	3904,8
Most 10%	7091,6	7370,3	6452,7	7680,0
Most 20%	6387,9	19232,9	21351,7	36827,4
HT 1%	12233,4	12741,4	15998,8	16457,0
HT 8%	13209,9	80327,0	119404,0	186842,2

RW: Rotwein; WW: Weißwein; HT: Hefetrub

Die AOX-Konzentrationen in Lösungen unter Verwendung von Weißwein waren niedriger als in Rotwein-Lösungen. Bei einer Reaktionstemperatur von 4°C lagen die AOX-Konzentrationen zwischen 380 µg/l and 18800 µg/l, bei 30°C zwischen 4652 µg/l and 43112 µg/l bei Umsetzungen unter 0,1% bis zu 11,1%. In den Modell-Versuchen, in denen Most verwendet wurde, bildeten sich zwischen 2244 µg/l und 36827 µg/l AOX bei einer Reaktionstemperatur von 4°C und zwischen 5302 µg/l und 190095 µg/l bei einer Behandlung der Lösungen bei 30°C, die AOX-Gehalte lagen in vielen Fällen über den Konzentrationen der entsprechenden Wein-Lösungen bei Umsetzungen zwischen 0,1% und 11,2%. Die intensivste AOX-Bildung wurde in Lösungen unter Verwendung von Hefetrub festgestellt. In diesen Lösungen betrugen die Konzentrationen bis zu 186842 µg/l bei 4°C bzw. 288216 µg/l bei 30°C bei Umsetzungen von Natriumhypochlorit zu AOX von 0,2% bis 11,6%. Die



Umsetzung des Natriumhypochlorits zu AOX war entsprechend den absoluten AOX-Gehalten bei den Modell-Lösungen mit Hefetrub am größten. Je niedriger die eingesetzte Natriumhypochlorit-Konzentration war, desto höher war die prozentuale Umsetzung. Bei der Simulation der Warmwasser-Reinigung bildete sich mehr AOX als bei der Darstellung der AOX-Bildung im Weinkeller. In den Lösungen, in denen geringere organische Belastungen vorhanden waren, bildete sich weniger AOX.

Tab. 4: Bildung von AOX (in  $\mu\text{g/l}$ ) in den Modell-Lösungen zur Simulation von Reinigungsvorgängen bei 30°C

Org. Komp. [%]	c (NaOCl) [g/l]			
	0,365	1,46	3,65	14,6
RW 4%	7556,8	10392,5	14126,8	21518,8
RW 10%	19195,6	39324,7	40364,0	34436,7
RW 20%	17232,4	27398,3	48312,3	59390,0
WW 4%	4652,1	9337,6	15426,0	20311,7
WW 10%	15787,4	39218,4	41054,6	42890,8
WW 20%	19319,9	40611,2	41853,8	43112,3
Most 4%	5302,1	11313,2	16418,8	33415,9
Most 10%	18614,1	77583,9	126558,0	148116,5
Most 20%	11739,8	76532,4	112946,1	190095,2
HT 1%	11702,3	27849,8	27639,7	19333,2
HT 8%	14553,6	74634,0	82777,6	288215,5

RW: Rotwein; WW: Weißwein; HT: Hefetrub

Bei der Desinfektion mit Natriumhypochlorit in der Weinbereitung tragen eine vorherige Verringerung der organischen Belastung (z.B. gründliche Reinigung mit Wasser, Hochdruckreinigung, getrennte Erfassung und Entsorgung fester/flüssiger Rückstände) und geringe Temperaturen während der Desinfektion zur Vermeidung der Bildung großer Mengen AOX bei. Die Ergebnisse stimmen mit Untersuchungen von Fürhacker (1998) überein, bei denen die Umsetzungen von Natriumhypochlorit zu AOX zwischen 5% und 7% lagen. In Abwässern aus Krankenhäusern wurden Umsetzungen von Natriumhypochlorit zu AOX zwischen 1% und 5% festgestellt (Schröder et al. 1999), bei Einsatz von Haushaltsreinigern und -desinfektionsmitteln zwischen 1% und 2% (Laschka 1990, AISE 1997). Die Entstehung ist stark von den Randbedingungen abhängig. Ein Teil der AOX entsteht unmittelbar nach Einwirken des Desinfektionsmittels auf organische Substanzen, die nicht durch vorherige Reinigung entfernt wurden. Des Weiteren ist nach Einleitung von Natriumhypochlorit in die



Kanalisation und folgende Verdünnung der Konzentrationen einzelner Substrate mit weiteren Reaktionen zu AOX zu rechnen. In Untersuchungen mit Inhaltsstoffen und organischen Materialien aus Abwässern der Weinbereitung (Tannine, Hefen, Tartrate, Weiß-/Rotwein) betrugen die Umsetzungen von Natriumhypochlorit zu AOX bis zu 13% bei Gehalten an AOX bis zu 33000 µg/l (Heil 1999). Durch die Desinfektion in der Weinbereitung mit Natriumhypochlorit ist ein hohes Potential zur Bildung von Desinfektions-Nebenprodukten vorhanden.

### 3.1.1.2 Simulierung des Abwassersammeltanks /-kanals

Zur Simulierung von AOX-Bildungssituationen im Abwassersammeltank und im Abwasserkanal wurden die üblicherweise in Abwasser vorkommenden Konzentrationen an Wein, Most und Hefetrub im Gegensatz zur Simulierung von Reinigungsvorgängen nicht erhöht (Konzentrationsbereiche von 1% bis 5% Wein/Most, 0,1% bis 2% Hefetrub). Danach wurde Natriumhypochlorit in geringeren Konzentrationen als bei Reinigungsvorgängen bis zu 0,365 g/l zugegeben und die Umsetzungen nach 24 Stunden mit Natriumsulfit beendet. Die Reaktionen wurden bei den entstehenden pH-Werten zwischen 3,7-7,5 und einer Temperatur von 20°C entsprechend der relativen Temperatur im Abwassertank durchgeführt. In Untersuchungen von Heil (1999) wurde gezeigt, dass in der Weinbereitung nach 24 Stunden die Umsetzung von Natriumhypochlorit zu AOX zu 99% abgeschlossen ist. Es ist davon auszugehen, dass nach dieser Zeit die Bildung von AOX vollständig erfasst wird.

Die Messung der AOX der Rotwein-Lösungen ergab Konzentrationen von 2744 µg/l (RW 1%), 6691 µg/l (RW 3%) und 7952 µg/l (RW 5%) bei der höchsten Natriumhypochlorit-Konzentration von 0,365 g/l. Eine geringere Natriumhypochlorit-Konzentration hatte niedrigere AOX-Konzentrationen zwischen 471 µg/l und 6226 µg/l zur Folge. In Tab. 5 sind die AOX-Gehalte verschiedener Modell-Lösungen nach Behandlung mit Natriumhypochlorit dargestellt. Die Konzentrationen an AOX in Modell-Lösungen mit Weißwein lagen zwischen 1704 µg/l und 8464 µg/l bei einer Natriumhypochlorit-Konzentration von 0,365 g/l. Im Gegensatz zur Darstellung von Reinigungsvorgängen war die Bildung von AOX in Modell-Lösungen mit Rotwein nicht höher als in Lösungen mit Weißwein. Die Bildung von AOX war von der Natriumhypochlorit-Konzentration abhängig. Die Gehalte an gebildetem AOX der Weißwein-Lösungen, die 24 Stunden mit Natriumhypochlorit in Konzentrationen zwischen 0,0365 g/l und 0,183 g/l behandelt wurden, sind ebenfalls in Tab. 5 dargestellt. In diesen Modell-Lösungen betrugen die Konzentrationen an AOX zwischen 188 µg/l und 7487

$\mu\text{g/l}$ . Die Konzentrationen an AOX in Modell-Lösungen mit Most lagen zwischen  $730 \mu\text{g/l}$  und  $12975 \mu\text{g/l}$  und waren generell höher als in Modell-Lösungen unter Verwendung von Rotwein. Die höchsten Konzentrationen an AOX wurden in Modell-Lösungen unter Verwendung von Hefetrub gemessen. Nach Zugabe von Natriumhypochlorit betrugen die Gehalte an AOX in diesen Lösungen zwischen  $4211 \mu\text{g/l}$  und  $32358 \mu\text{g/l}$  bei Konzentrationen an Hefetrub zwischen 0,1% und 2%. Die Umsetzungen von Natriumhypochlorit zu AOX waren in den meisten Fällen höher als bei der Simulierung von Reinigungsvorgängen und der Warmwasser-Reinigung und betrugen in Rotwein-Lösungen zwischen 1,6% und 9,5% und in Weißwein-Lösungen zwischen 1,0% und 9,8%. In Modell-Lösungen mit Most waren die Umsetzungen höher (3,7% bis 11,5%), die höchste Umsetzung war in Hefetrub-Lösungen zwischen 16,2% und 24,9% feststellbar. Obwohl in diesen Lösungen die Reaktionstemperatur geringer war als bei der Simulierung von Reinigungsvorgängen, wurden nach 24 Stunden höhere Konzentrationen an AOX gemessen. Die AOX-Bildung ist nach 45 Minuten noch nicht abgeschlossen. Schon geringe Mengen Natriumhypochlorit führten zu hohen AOX-Gehalten, höhere Gehalte an organischer Substanz hatten einen Anstieg der Bildung von AOX zur Folge.

Tab. 5: AOX-Gehalte (in  $\mu\text{g/l}$ ) in den Modell-Lösungen zur Simulation der AOX-Bildung in Abwassersammeltank und -kanal

Org. Komp. [%]	c (NaOCl) [g/l]			
	0,0365	0,091	0,183	0,365
RW 1%	1657,3	2327,9	2634,0	2743,9
RW 3%	470,8	3100,2	6225,8	6690,8
RW 5%	1239,0	3367,3	6030,2	7952,1
WW 1%	188,0	455,9	1326,8	1703,7
WW 3%	1380,6	1629,4	7487,2	8371,0
WW 5%	1705,7	2741,4	6710,8	8463,7
Most 1%	729,7	2785,2	5746,5	6353,6
Most 3%	2004,3	2253,2	5930,7	12836,4
Most 5%	992,0	2191,5	4232,4	12975,1
HT 0,1%	4211,3	8433,5	17114,5	28083,4
HT 1%	4342,5	10635,4	18780,7	29841,7
HT 2%	7481,1	6280,2	21641,0	37650,2

RW: Rotwein; WW: Weißwein; HT: Hefetrub

In anderen Untersuchungen wurden Umsetzungen von Natriumhypochlorit zu AOX in Modell-Versuchen zwischen 0,75% und 2,25% berichtet. In Feldstudien betrugen die Umsetzungen 1,75% (Schowanek et al. 1996) bzw. bis zu 4% (Schulz 1998). Die Untersuchungen haben gezeigt, dass Abwässer aus der Weinbereitung ein hohes Potential zur Bildung von AOX besitzen und eine nachträgliche Bildung großer Mengen AOX bei geringen Konzentrationen an Natriumhypochlorit stattfindet.

### **3.1.2 Bildung von AOX bei Verwendung von Peroxyessigsäure**

Der Einsatz von Peroxyessigsäure als Desinfektionsmittel wird zunehmend als Alternative zu chlorhaltigen Wirkstoffen angesehen. Jedoch können sich auch bei Einsatz unchlorierter Wirkstoffe und alternativer Verfahren Nebenprodukte der Desinfektion bilden. Ein Beispiel ist die Bildung von OH-Radikalen und Reaktion der Radikale mit organischen Substanzen bei Anwendung von UV. Bei alleiniger Anwendung von Peroxyessigsäure entstehen hohe Konzentrationen an organischen Säuren (Richardson 2003). Die Bildung halogenierter Nebenprodukte wird diskutiert. Die biozide Wirkung von Peroxyessigsäure ist vergleichbar mit der Wirkung von Natriumhypochlorit (Veschetti et al. 2003). Die Frage, ob sich bei Einsatz von Peroxyessigsäure AOX durch Oxidation von Chlorid-Ionen zu Hypochlorit und anschließende Halogenierungsreaktionen bilden, konnte bisher nicht eindeutig geklärt werden.

#### **3.1.2.1 Bildung von AOX aus Peroxyessigsäure und Natriumchlorid**

Es wurde die Bildung von AOX bei verschiedenen Konzentrationen an Natriumchlorid und Peroxyessigsäure bei unterschiedlichen Reaktionszeiten und -temperaturen untersucht. Weitere organische Komponenten waren nicht anwesend.

Bei einer Natriumchlorid-Konzentration von 0,2 g/l und einer Temperatur von 4°C (Reaktionszeiten 45 Minuten und 24 Stunden) konnten nach Zugabe von Peroxyessigsäure in Konzentrationen von 0,36 g/l bis 10,54 g/l keine AOX nachgewiesen werden. Betrug die Natriumchlorid-Konzentration 0,2 g/l und die Reaktionstemperatur war 30°C, so waren nach einer Reaktionszeit von 45 min ebenfalls keine AOX messbar. Nach Erhöhung der Reaktionszeit auf 24 Stunden war der Nachweis geringer Mengen AOX möglich. In Tab. 6 sind die durchschnittlichen Konzentrationen an gebildetem AOX unter letzteren Reaktionsbedingungen zu sehen. Die Bildung von AOX war unabhängig von der

Peroxyessigsäure-Konzentration. Die höchsten mittleren AOX-Gehalte von 31,8 µg/l wurden bei der geringsten PES-Konzentration von 0,36 g/l gemessen. In diesen Lösungen war die mittlere Umsetzung von Natriumchlorid zu AOX mit 0,026% am höchsten.

Tab. 6: Bildung von AOX bei verschiedenen PES-Konzentrationen (c (NaCl) = 0,2 g/l, T = 30°C, t = 24 h)

c (PES) [g/l]	AOX [µg/l]	AOX (als Cl) [µmol/l]	c (Cl/eingesetzt) [mmol/l]	Umsetzung NaCl zu AOX [%]
0,36	31,8	0,90	3,42	0,03
0,91	30,4	0,86	3,42	0,03
1,82	5,8	0,16	3,42	0,01
3,65	16,8	0,47	3,42	0,01
5,47	14,4	0,41	3,42	0,01
10,54	7,8	0,22	3,42	0,01

Bei Reaktionen in der Siedehitze bildeten sich größere Mengen an AOX. Die Bildung der Verbindungen war proportional zur Peroxyessigsäure-Konzentration. Die mittleren Umsetzungen von Natriumchlorid zu AOX waren höher als bei der Reaktionstemperatur 30°C und stiegen bei Erhöhung der Konzentration an Peroxyessigsäure bis auf 1,3% an. Es bildeten sich höhere AOX-Konzentrationen bis zu durchschnittlich 1595,6 µg/l (Tab. 7).

Tab. 7: Bildung von AOX bei verschiedenen PES-Konzentrationen (c (NaCl) = 0,2 g/l, T > 100°C, t = 5 min)

c (PES) [g/l]	AOX [µg/l]	AOX (als Cl) [µmol/l]	c (Cl/eingesetzt) [mmol/l]	Umsetzung NaCl zu AOX [%]
0,36	60,8	1,7	3,42	0,05
0,91	392,3	11,1	3,42	0,32
1,82	538,6	15,2	3,42	0,44
3,65	1088,9	30,7	3,42	0,90
5,47	1595,6	45,0	3,42	1,32

Die Bildung von AOX war von der Konzentration an Natriumchlorid abhängig. Eine Erhöhung der Natriumchlorid-Konzentration hatte eine stärkere Bildung von AOX zur Folge. Schon bei relativ geringen Natriumchlorid-Konzentrationen von 0,1 g/l wurden hohe AOX-Konzentrationen von durchschnittlich 462,4 µg/l gemessen (Tab. 8). Bei der höchsten

eingesetzten Natriumchlorid-Konzentration von 2 g/l war der mittlere AOX-Gehalt ca. dreifach erhöht.

Tab. 8: Bildung von AOX bei verschiedenen NaCl-Konzentrationen (c (PES) = 1,824 g/l, T > 100°C, t = 5 min)

c (NaCl) [g/l]	AOX [ $\mu$ g/l]	AOX (als Cl) [ $\mu$ mol/l]	c (Cl/eingesetzt) [mmol/l]	Umsetzung NaCl zu AOX [%]
<b>0,1</b>	<b>462,4</b>	<b>13,0</b>	<b>1,71</b>	<b>0,76</b>
0,2	538,6	15,2	3,42	0,44
0,5	1045,9	29,5	8,56	0,34
1	983,3	27,7	17,11	0,16
<b>2</b>	<b>1219,8</b>	<b>34,4</b>	<b>34,22</b>	<b>0,10</b>

In den Versuchen bildeten sich AOX nur in der Siedehitze in höheren Konzentrationen.

### 3.1.2.2 Bildung von AOX in der Weinbereitung

Während bei dem Einsatz von Peroxyessigsäure als Desinfektionsmittel die Bildung von AOX, aber auch unhalogenierten Nebenprodukten diskutiert wird, sind einige Wirkungen von Peroxyessigsäure auf Inhaltsstoffe von Lebensmitteln bekannt. Ein Beispiel ist die Bildung der Aromakomponente  $\beta$ -Damascenon aus 9'-*cis*-Neoxanthin, die sich schon in geringen Konzentrationen geruchlich bemerkbar macht (Geruchsschwellenwert 2 ppt in Wasser) (Bezman et al. 2005).

Die Ergebnisse der Versuche mit Peroxyessigsäure und Natriumchlorid (Kap. 3.1.2.1) zeigen, dass sich AOX bei Einsatz von Peroxyessigsäure bei hohen Temperaturen bilden. Ob sich unter den herkömmlichen Bedingungen des Reinigungsvorganges bzw. im Abwassersammeltank und -kanal höhere Konzentrationen an AOX bilden, wurde durch die Darstellung verschiedener Bildungssituationen für AOX untersucht. Es wurden als organische Komponenten Rotwein, Weißwein, Most und Hefetrub in Konzentrationen zwischen 1% und 20% eingesetzt. Die Peroxyessigsäure-Konzentrationen lagen zwischen 0,23 g/l und 6,84 g/l, die Reaktionstemperaturen waren 4°C, 20°C und 30°C, die Reaktionszeiten 45 Minuten und 24 Stunden. Natriumchlorid wurde in Konzentrationen bis zu 1 g/l zugegeben. Die Konzentration von Natriumchlorid in Wein beträgt normalerweise unter 0,05 g/l, kann jedoch in Abhängigkeit von den Bodenverhältnissen bis zu 1 g/l betragen (Ribéreau-Gayon et al. 2000). Die Konzentration an Chloriden wird während der Reinigung und Desinfektion weiter

erhöht. In den Modell-Lösungen konnte unter den angewandten Reaktionsbedingungen keine AOX-Bildung nachgewiesen werden.

Bei Einsatz von Peroxyessigsäure als Desinfektionsmittel in der Weinbereitung bilden sich keine AOX. Diese Ergebnisse stimmen mit Booth und Lester (1995) überein, die in ihren Untersuchungen keine direkte Oxidation von Chlorid zu hypochloriger Säure zeigen konnten. Bei der Behandlung von wässrigen Lösungen mit Huminsäuren bildeten sich in Untersuchungen von Crathorne et al. (1991) keine AOX und Trihalogenmethane. Nach der Behandlung von Abwässern aus Kläranlagen mit Peroxyessigsäure in Konzentrationen zwischen 0,5 mg/l und 4 mg/l konnten Veschetti et al. (2003) keinen signifikanten Anstieg von AOX feststellen. Auch Kitis (2004) hat die Bildung von AOX aus Peroxyessigsäure ausgeschlossen. Der Einsatz von Peroxyessigsäure als Desinfektionsmittel in der Weinbereitung kann unter dem Aspekt der Bildung halogenorganischer Nebenprodukte als unproblematisch angesehen werden und trägt zur Vermeidung von AOX bei. Jedoch sollte in diesem Zusammenhang berücksichtigt werden, dass auch bei Einsatz alternativer Desinfektionsmittel Nebenprodukte entstehen, deren Bildung bisher nicht untersucht wurde. So wurden bei Einsatz von Ozon höhere Konzentrationen stark kanzerogener Bromate nachgewiesen, während 50% der halogenierten Nebenprodukte dieses Desinfektionsmittels bislang nicht bekannt sind (Richardson 2003).

### **3.1.3 Fraktionierung von AOX**

Um Informationen über die Eigenschaften der AOX zu erhalten, die sich bei Einsatz von Natriumhypochlorit bilden, wurden sie mit einem Adsorberharz XAD-7 und einem Anionenaustauscher IRA-67 in Anlehnung an Methoden von Fokuhl (1999) und Gremm und Frimmel (2000) nach ihren chemischen Eigenschaften getrennt (Kap. 6.1.4). Die mit Salpetersäure konservierten Proben wurden drucklos über eine mit XAD-7 befüllte Säule gegeben und im zweiten Schritt eine mit dem Anionenaustauscher beschickte Säule für das Perkolat der ersten Trennung verwendet. Anschließend wurden einzelne Fraktionen eluiert. Das Aufarbeitungsschema ist in Abb. 4 wiedergegeben.

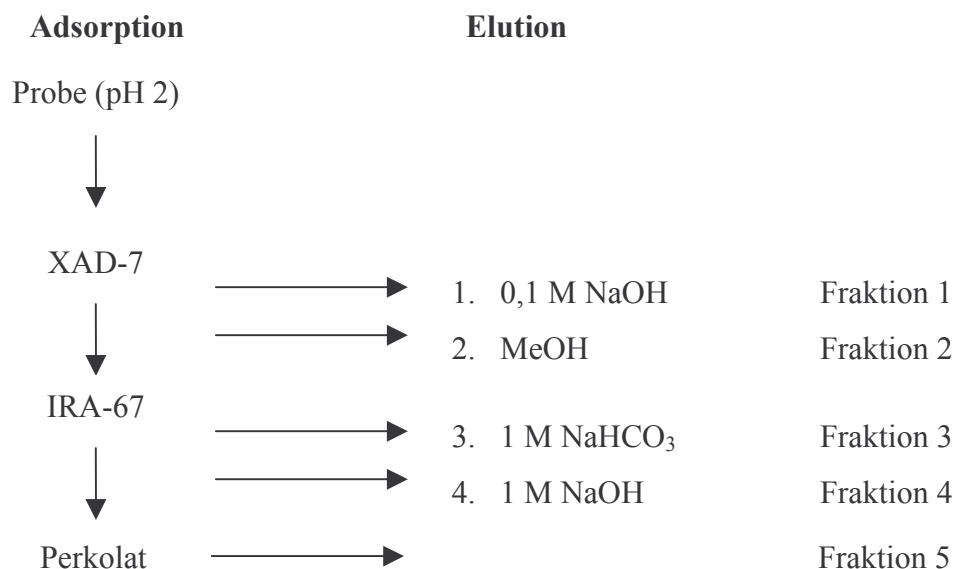


Abb. 4: Schema der AOX-Fraktionierung

An XAD-7 adsorbieren relativ hydrophobe Substanzen. Bei Elution der vom Acrylester-Harz festgehaltenen Verbindungen mit Natronlauge werden Fraktionen erhalten, in denen sich Verbindungen mit Säurecharakter befinden, mit Methanol werden hydrophobe Verbindungen mit neutralen, basischen und amphoteren Eigenschaften eluiert. Mit den Natriumhydrogencarbonat- und Natronlauge-Lösungen werden hydrophile Verbindungen mit Säurecharakter erfasst, hydrophile Verbindungen mit basischen und amphoteren Eigenschaften befinden sich im Perkolat. Nach der Aufarbeitung der Proben (Kap. 6.1.4) wurden die Gehalte an AOX der einzelnen Fraktionen bestimmt. Auf diese Weise war die Unterteilung der Verbindungen entsprechend ihrer Hydrophilie sowie saurer und basischer Eigenschaften möglich (Tab. 9).

Tab. 9: Charakteristika einzelner Fraktionen der AOX-Festphasenfraktionierung

Fraktion	Adsorption	Desorption	Charakteristik
1	XAD-7	0,1 M NaOH	Säuren, hydrophobe Eigenschaften
2	XAD-7	Methanol	Neutrale, Basen, Amphotere (hydrophob)
3	IRA-67	1 M NaHCO <sub>3</sub>	starke Säuren, hydrophile Eigenschaften
4	IRA-67	1 M NaOH	schwache Säuren, hydrophile Eigenschaften
5	Perkolat	nicht extrahierbar	Basen, Amphotere (hydrophil)



Bei dem Hauptanteil der AOX handelte es sich um Verbindungen mit hydrophilen Eigenschaften. Diese Fraktion hatte einen Anteil an den gesamten AOX zwischen 48% und 82%. Bei 21% bis 31% der hydrophilen Verbindungen handelte es sich um starke Säuren, bei 27% bis 51% um schwache Säuren. Hydrophobe Verbindungen hatten einen Anteil an den gesamten halogenierten Verbindungen von höchstens 31%. Der Anteil hydrophiler basischer und amphoterer Verbindungen betrug 5% bis 7%. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass die hydrophoben Verbindungen an XAD-7 nicht vollständig adsorbieren und Verschleppungen in die Fraktion der hydrophilen Verbindungen durch nachfolgende Adsorption am Anionenaustauscher stattgefunden haben können.

Die Ergebnisse zeigen, dass ein erheblicher Teil der AOX saure Eigenschaften hat. Bei diesen Verbindungen könnte es sich um halogenierte Essigsäuren und aromatische Säuren handeln. Auch Trichloracetaldehyd kann in die Gruppe von Verbindungen mit schwachem Säurecharakter eingeordnet werden. Eine hydrophobe Verbindung mit sauren Eigenschaften könnte beispielsweise Chloroform sein, das aufgrund seiner drei stark elektronenziehenden Chlor-Substituenten relativ sauer ist. Der Anteil basischer Verbindungen spielt eine untergeordnete Rolle. In Tab. 10 ist die prozentuale Verteilung der AOX in den verschiedenen Fraktionen dargestellt.

Tab. 10: Prozentuale Verteilung der AOX nach Festphasenfractionierung

Adsorption	Fraktion	AOX-Anteil	
XAD-7	1. Säuren (hydrophob)	8-31%	4-21%
	2. Neutrale, Basen, Amphotere (hydrophob)		4-10%
IRA-67	3. starke Säuren (hydrophil)	48-82%	21-31%
	4. schwache Säuren (hydrophil)		27-51%
Perkolat	5. Basen, Amphotere (hydrophil)	5-7%	5-7%

## 3.2 Untersuchung halogenierter Substanzen in Simulations-Versuchen

### 3.2.1 Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe

Die Bildung leichtflüchtiger halogener Kohlenwasserstoffe (LHKW) durch Desinfektionsmittel in der Weinbereitung ist in das öffentliche Interesse gerückt, als Chloroform-Rückstände in Wein und Fruchtsäften in Konzentrationen bis zu 600 µg/l nachgewiesen wurden (Dross und Wittkowski 1995). Ursache für diese Rückstände waren



chlorhaltige Wirkstoffe. Zur Untersuchung der Bildung von LHKW bei Behandlung mit Natriumhypochlorit wurden Simulationsversuche entsprechend Kap. 3.1.1 durchgeführt. Die Bestimmung der LHKW erfolgte mittels „Headspace“-Technik. Es wurde ein Aliquot aus geschlossenen Vials für die Headspace-Analytik entnommen, dessen Temperatur für 60 Minuten bei einer Temperatur von 70°C stabil gehalten wurde. Die chromatographische Analyse wurde entsprechend Kap.6.2.1.1 durchgeführt. In Tab. 11 sind die Retentionszeiten und MS-Daten der untersuchten Verbindungen aufgeführt.

Tab. 11: Retentionszeiten und Massenfragmente  $m/z$  von leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen / „Headspace“-Technik

Verbindung	Retentionszeit $R_t$ [min]	$m/z$
Trichlorfluormethan	2,4	101/66
1,1-Dichlorethen	3,0	<b>96</b> /61
Dichlormethan	3,6	<b>84</b> /51
1,1-Dichlorethan	4,5	<b>98</b> /62
Chloroform	6,1	<b>118</b> /83
Tetrachlorkohlenstoff	6,6	117/82
Trichlorethen	8,7	<b>130</b> /95/60
1,2-Dichlorpropan	9,3	97/76/63
2-Chlorethylvinylether	11,2	<b>106</b> /63
Trichlorethan	13,7	96/83/61
Tetrachlorethen	13,9	<b>164</b> /131/94
Dibromchlormethan	14,7	127/91/79
Chlorbenzol	16,2	<b>112</b> /77/51
1,2-Dichlorbenzol	22,8	<b>146</b> /111/75

Bei Verwendung von Natriumhypochlorit konnte in allen Proben Chloroform nachgewiesen werden. In einigen Proben bildeten sich Tetrachlorkohlenstoff und Tetrachlorethen. Die Quantifizierung der Verbindungen erfolgte im SIM-Modus über die Massenfragmente  $m/z = 118/83$  (Chloroform) und  $m/z = 117/82$  (Tetrachlorkohlenstoff).

### 3.2.1.1 Chloroform

Chloroform war in allen Proben in Konzentrationen bis zu 28,6 mg/l nachweisbar. Chloroform ist ein wesentliches Nebenprodukt der Desinfektion mit chlorhaltigen Mitteln. Ein bekanntes Beispiel für die Entstehung von Chloroform ist die Chlorierung von Trinkwasser und Badewasser. Reckhow et al. 1990 zeigten, dass Chloroform nach Behandlung von Huminstoffen mit Natriumhypochlorit einen Anteil von ca. 20% an den gesamten gebildeten halogenorganischen Verbindungen besitzt. In den Weißwein-Lösungen betrug die Konzentration bis zu 15 mg/l, in den Hefetrub-Lösungen bis zu 20,3 mg/l. Chloroform ist ein dominierendes Nebenprodukt der Desinfektion mit Natriumhypochlorit, die Ergebnisse von Nikolaou et al. (2004), der in Untersuchungen zur Bildung von Chloroform in Oberflächenwasser die Abhängigkeit von der Temperatur und der Konzentration von chlorhaltigen Wirkstoffen untersuchte, konnten auf die Desinfektionsprozesse im Weinbau übertragen werden. Die Bildung von Chloroform zeigte eine starke Temperaturabhängigkeit. Die Chloroform-Konzentrationen der bei 30°C behandelten Proben lagen durchgängig über den Konzentrationen der bei 4°C behandelten Proben. Die Konzentrationen der bei 4°C behandelten Lösungen betrugen bis zu 13,1 mg/l (RW 20%) bzw. 12,7 mg/l (WW 20%). Für Hefetrub-Lösungen betrugen die Chloroform-Gehalte bis zu 17,1 mg/l. In den Proben mit Weißwein wurden bei höherer Behandlungstemperatur bis zu dreifach höhere Konzentrationen an Chloroform festgestellt. In den Rotwein-Lösungen waren die Konzentrationen achtfach erhöht. In den Hefetrub-Lösungen waren bis zu dreifache Erhöhungen der Konzentration an Chloroform messbar. Bei größeren Konzentrationen an organischem Material oder Natriumhypochlorit in den Modell-Lösungen war eine stärkere Bildung von Chloroform feststellbar. Die Verzehnfachung der Konzentration des Desinfektionsmittel-Wirkstoffes führte zu einer proportionalen Erhöhung der Gehalte an Chloroform in den Abwässern aus Rot-/Weißwein. Für die Hefetrub-Lösungen konnten Erhöhungen der Chloroform-Konzentrationen um den Faktor drei gemessen werden. In den Lösungen, die unter Verwendung von Rotwein hergestellt wurden, konnten durchgängig höhere Chloroformgehalte bestimmt werden, als in den Lösungen unter Verwendung von Weißwein in derselben Konzentration. In Abb. 5 sind die durchschnittlichen Chloroform-Konzentrationen in Modell-Lösungen unter Verwendung von Rotwein und Weißwein bei Behandlung mit 1,46 g/l Natriumhypochlorit dargestellt.

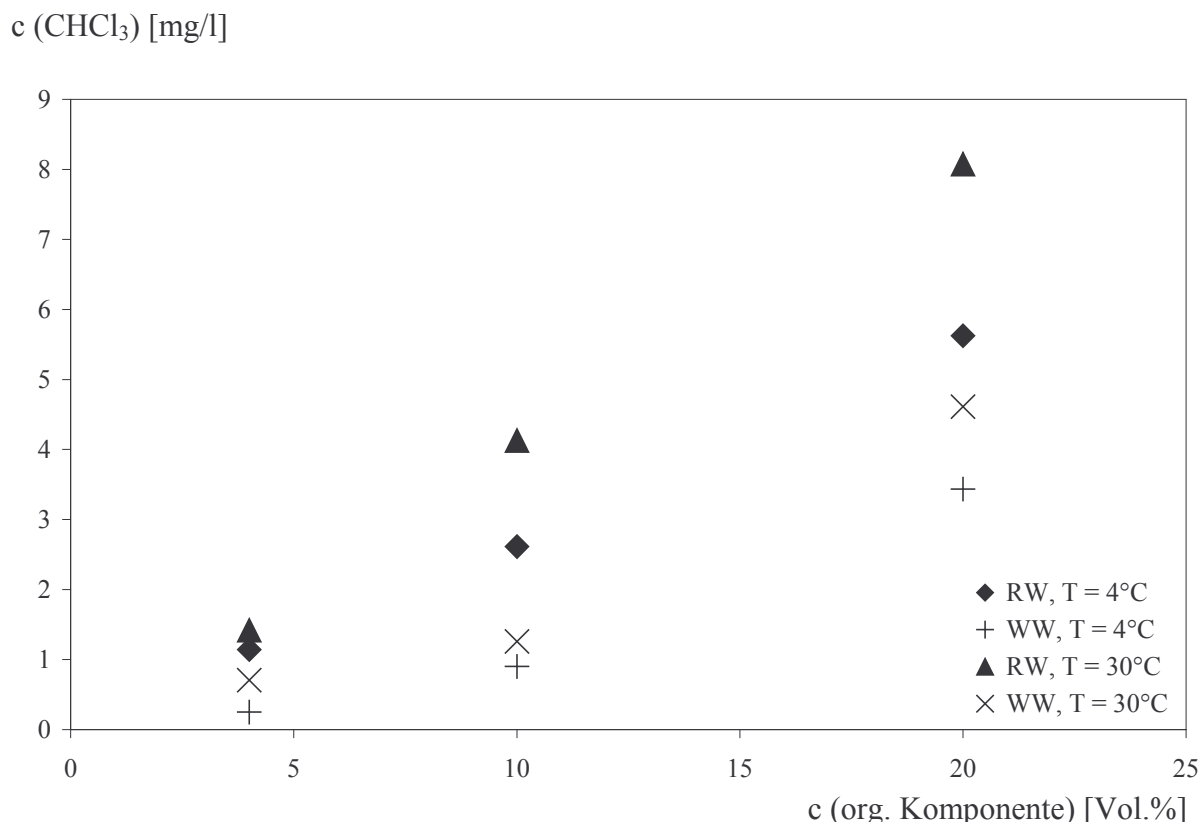


Abb. 5: Vergleich der Bildung von Chloroform in Simulationsversuchen / Verwendung von Rotwein (RW) bzw. Weißwein (WW)

Die prozentualen Umsetzungen von Natriumhypochlorit zu Chloroform betrugen zwischen 0,16% und 0,37%. In der Trinkwasserverordnung ist ein Grenzwert von 0,05 mg/l für die Summe der Trihalogenmethane festgesetzt. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) gibt als tolerierbare tägliche Aufnahme einen Wert von 0,01 mg/kg/Tag an. Der Eintrag dieser bei Desinfektions-Prozessen in der Weinbereitung entstehenden Substanz wird in Kap. 3.5.2 diskutiert.

### 3.2.1.2 Tetrachlorkohlenstoff

Tetrachlorkohlenstoff konnte in Proben nachgewiesen werden, in denen höhere organische Belastungen vorhanden waren. Tetrachlorkohlenstoff konnte in den bei 4°C behandelten Rot- und Weißwein-Lösungen nicht nachgewiesen werden und trat lediglich in den mit Hefetrub angesetzten Proben auf. Die Konzentration an Tetrachlorkohlenstoff betrug bis zu 0,29 mg/l. In den bei Temperaturen von 30°C hergestellten Lösungen wurde Tetrachlorkohlenstoff in den Hefetrub-Lösungen in Konzentrationen bis zu 0,35 mg/l nachgewiesen. Die Konzentrationen an Tetrachlorkohlenstoff nach Behandlung bei 30°C lagen über den

Gehalten der bei 4°C behandelten Proben. Eine Erhöhung der Natriumhypochlorit-Konzentration bewirkte eine stärkere Bildung von Tetrachlorkohlenstoff. Bei einprozentigen Hefetrub-Lösungen war ein Nachweis erst bei Natriumhypochlorit-Konzentrationen von 14,6 g/l möglich. Die Konzentrationen an Tetrachlorkohlenstoff in Modell-Lösungen mit Hefetrub sind in Tab. 12 dargestellt. Die ausschließliche Bildung von Tetrachlorkohlenstoff in den Hefetrub-Lösungen hat ihre Ursache in der unterschiedlichen Zusammensetzung der Modell-Lösungen. In den Hefetrub-Lösungen finden sich nur geringe Konzentrationen an Glucose und Fructose, während der Anteil an stickstoffhaltigen Verbindungen in der Trockensubstanz (38% bis 60%) im Vergleich zu Most und Wein stark erhöht ist. Dominierende Kohlenhydrate sind Glykogen und Glucane, die in den Zellwänden der eingesetzten Hefen *Saccharomyces* zum Stützgerüst beitragen. Ebenfalls ist der Anteil an Lipiden zwischen 4% und 10% (Sponholz 1989) höher als in Wein. Der Tetrachlorkohlenstoff könnte nach Behandlung mit Natriumhypochlorit aus einer dieser Substanzklassen gebildet worden sein, die in den anderen Modell-Lösungen nicht in höherer Konzentration vorkamen.

Tab. 12: Abhängigkeit der Tetrachlorkohlenstoff-Bildung von Temperatur und organischer Belastung

c (HT) [%]	T [°C]	c (CCl <sub>4</sub> ) [mg/l]
1	4	0,03
	30	0,05
8	4	0,16
	30	0,25

Die prozentuale Umsetzung von Natriumhypochlorit zu Tetrachlorkohlenstoff lag zwischen 0,002% und 0,003%. Tetrachlorkohlenstoff ist eine Verbindung mit kanzerogenen und embryotoxischen Eigenschaften. Konzentrationen im Trinkwasser sollten 0,005 mg/l nicht überschreiten (Ogilvie 2005). Es handelt sich um eine ubiquitär vorkommende Verbindung mit einer Halbwertszeit in Gewässern von 10<sup>3</sup> Wochen. Tetrachlorkohlenstoff ist eine gesundheitsschädliche Substanz, die schnell vom Körper resorbiert wird. Akkumulation findet in Fettgewebe, Gehirn, Leber und Niere statt. In der Leber findet im ersten Schritt der Biotransformation eine Reduktion zu Trichlormethyl-Radikalen durch Cytochrom P<sub>450</sub> - Monooxygenasen statt. Anschließend folgt weitere Metabolisierung und daraus folgend Schädigungen der Zellmembran, Bindung an Makromoleküle und Lipid-Peroxidation (Fent 2003).

### 3.2.1.3 Tetrachlorethen

Tetrachlorethen wurde in Lösungen nachgewiesen, in denen Natriumhypochlorit in höherer Konzentration eingesetzt wurde. Quantitative Aussagen über die Bildung von Tetrachlorethen waren jedoch nicht möglich, da diese Verbindung nur in Konzentrationen unterhalb der Bestimmungsgrenze auftrat. Eine Affinität zur Bildung in bestimmten Lösungen war nicht erkennbar. In Abb. 6 ist das Massenspektrum von Tetrachlorethen dargestellt.

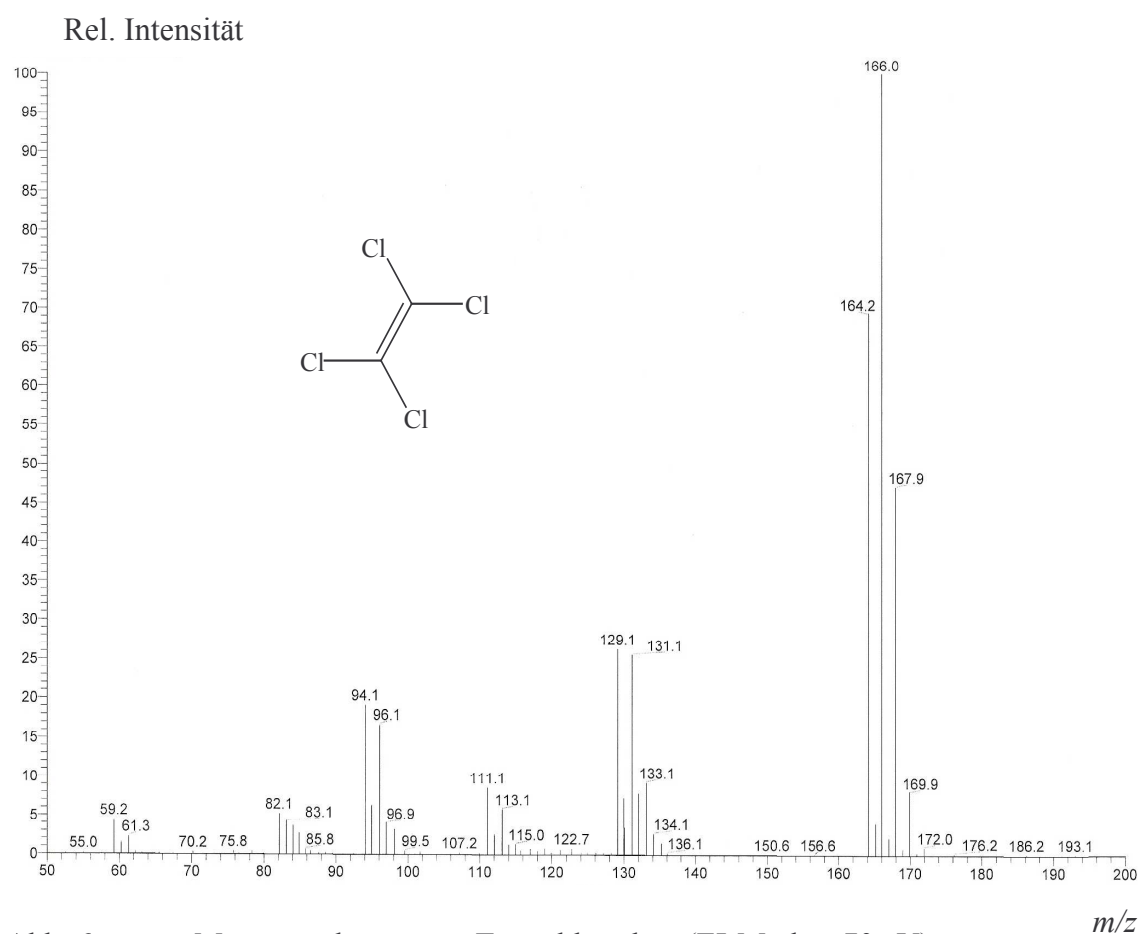


Abb. 6: Massenspektrum von Tetrachlorethen (EI-Modus, 70 eV)

Tetrachlorethen ist in der Umwelt weit verbreitet, die Halbwertszeit beträgt 3-6 Monate. Tetrachlorethen gehört neben Dichlormethan, Trichlorethen und 1,1,1-Trichlorethan zu den sogenannten „vier schwarzen Schwestern“, die zur Boden- und Grundwasserverunreinigung mit LHKW geführt haben. In der Trinkwasserverordnung wird für Tetrachlorethen und Trichlorethen insgesamt ein Grenzwert von 0,01 mg/l festgesetzt. Tetrachlorethen wird schnell und vollständig im Gastrointestinal-Trakt adsorbiert, die Ausscheidung erfolgt in erster Linie durch die Lunge (Eisenbrand et al. 2005). Tetrachlorethen steht im Verdacht,

kanzerogene Eigenschaften nach Bioaktivierung (Bildung von Chloroxiran und DNA-Bindung) zu besitzen (Fent 2003). Detaillierte *in vivo* und *in vitro* Studien zum oxidativen Metabolismus von Tetrachlorethen in Säugetieren durch Cytochrom-P450 zeigen die Bildung von reaktiven Intermediaten an, die kovalente Addukte mit Molekülen im Körper bilden (van Hylckama Vlieg und Janssen 2001). Der Eintrag von Tetrachlorethen in die Umwelt durch Desinfektionsprozesse während der Weinlese wird in Kap. 3.5.2 diskutiert.

### 3.2.2 Halogenierte Essigsäuren

Halogenierte Essigsäuren werden ubiquitär in aquatischen Ökosystemen als Umweltkontaminaten gefunden. Ursache für die Kontamination können sowohl anthropogene als auch natürliche Quellen sein. Eine der potentiellen Quellen stellt die Chlorierung von Wasser dar (Hanson und Solomon 2004). Auch bei der Desinfektion im Weinbau ist die Bildung dieser Substanzen wahrscheinlich. Aufgrund ihrer kleinen Henry-Konstante, hohem  $pK_s$ -Wert und guter Wasserlöslichkeit gehen die Verbindungen schnell in wässrige Medien über (Bowden et al. 1998). Die Untersuchung von halogenierten Essigsäuren ist aufgrund ihrer Toxizität und ihres möglichen Beitrages zur Bildung von entsprechenden Trihalogenmethanen durch Decarboxylierung (Benanou et al. 1998) unerlässlich.

Zur Untersuchung der Bildung von halogenierten Essigsäuren bei Behandlung mit Natriumhypochlorit wurden Simulationsversuche entsprechend Kap. 3.1.1 durchgeführt. Die halogenierten Essigsäuren wurden nach Aufarbeitung und Derivatisierung zu Methylestern bestimmt (Kap. 6.2.2.1). Derivatisierungsreagenz war Trimethylsulfonium-Hydroxid, das auch bei der Bestimmung höhermolekularer organischer Säuren verwendet wird. Beispiele sind die Methylierung aromatischer halogener Säuren oder die Untersuchung polarer Arzneimittelrückstände und Metaboliten, z.B. Clofibrinsäure (Werres et al. 2000).

Dichloressigsäure hatte eine Retentionszeit  $R_t$  von 11,6 Minuten und wurde im SIM-Modus über die charakteristischen Massenfragmente  $m/z = 127/111/83$  quantifiziert.

Tab. 13: Retentionszeiten und MS-Daten halogener Essigsäuren (als Methylester)

Verbindung	Retentionszeit $R_t$ [min]	$m/z$
Chloressigsäure	8,4	<b>107</b> /91/77
Bromessigsäure	11,1	121/93/73
Dichloressigsäure	11,6	127/111/83
Trichloressigsäure	12,3	<b>176</b> /145/117
Bromchloressigsäure	14,5	154/127/73
Dibromessigsäure	17,3	199/171/120

In allen Proben konnte Dichloressigsäure in Konzentrationen bis zu 609 mg/l nachgewiesen werden. Die Bildung von Dichloressigsäure zeigte eine starke Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur, der organischen Belastung der Proben und der Konzentration von Natriumhypochlorit. Bei einer Temperatur von 4°C wurden in Rotwein-Lösungen Dichloressigsäure-Konzentrationen zwischen 6,6 mg/l und 49,3 mg/l gemessen. In Weißwein-Lösungen lagen die Gehalte an Dichloressigsäure zwischen 4,0 mg/l und 126,4 mg/l und in Most-Lösungen zwischen 3,1 mg/l und 60,2 mg/l. Die höchsten Gehalte an Dichloressigsäure ergaben sich bei Verwendung von Hefetrub-Lösungen. Hier lagen die Werte zwischen 21,0 und 550,9 mg/l. Eine Erhöhung der Natriumhypochlorit-Konzentration führte zu einer stärkeren Dichloressigsäure-Bildung. Eine Temperaturerhöhung von 4°C auf 30°C hatte eine Erhöhung der Dichloressigsäure-Konzentration auf maximal zwölffache Werte bei Rotwein-Lösungen, neunfache Werte bei Weißwein-Lösungen, siebenfache Werte bei Most-Lösungen und dreifache Werte bei Hefetrub-Lösungen zur Folge. Bei einer Reaktionstemperatur von 30°C wurden (in Abhängigkeit vom Anteil an organischer Komponente und Natriumhypochlorit-Konzentration) in Rotwein-Lösungen Konzentrationen zwischen 14,2 und 609 mg/l, in Weißwein-Lösungen zwischen 40,2 mg/l und 140,2 mg/l, in Most-Lösungen zwischen 23,1 mg/l und 94,5 mg/l und in Hefetrub-Lösungen zwischen 55,5 mg/l und 209,1 mg/l gemessen. Die Bildung von Dichloressigsäure ist stark abhängig von der organischen Belastung der Modell-Lösungen.

In Abb. 7 wird die durchschnittliche Bildung von Dichloressigsäure nach der Behandlung mit Natriumhypochlorit in einer Konzentration von 1,46 g/l dargestellt. Die durchschnittlichen Konzentrationen der Dichloressigsäure waren bei einer Reaktionstemperatur von 30°C in den 20%-igen Lösungen von Weißwein am höchsten (114,2 mg/l). Die niedrigsten Konzentrationen der Dichloressigsäure wurden bei 4°C in 4%-igen Most-Lösungen bestimmt (3,6 mg/l).

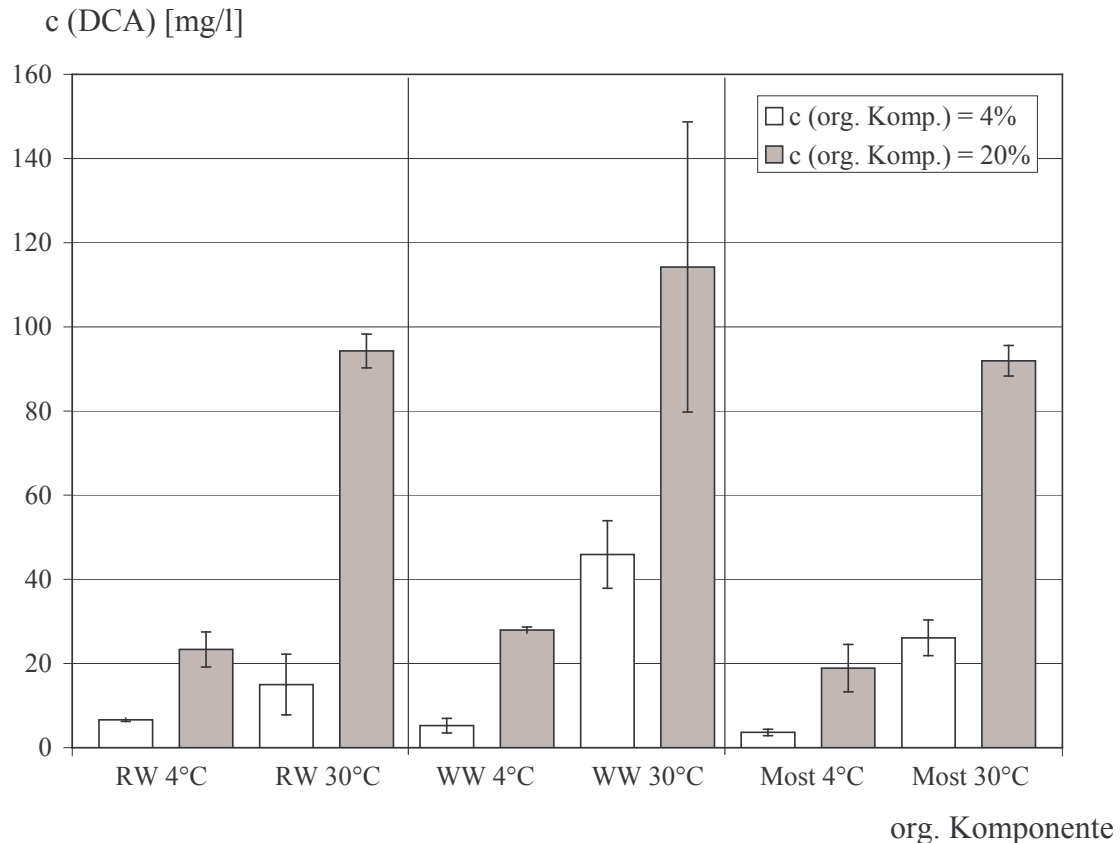


Abb. 7: Vergleich der Bildung von Dichloressigsäure (DCA) in Simulationsversuchen mit Rotwein (RW)-, Weißwein (WW)- und Most-Lösungen (n = 3)

Die prozentuale Umsetzung von Natriumhypochlorit zu Dichloressigsäure war von den Reaktionsbedingungen abhängig und betrug zwischen 0,05 und 9,03%. Im Bereich der Reinigung und Desinfektion im Weinbau mit Natriumhypochlorit-haltigen Präparaten stellt Dichloressigsäure ein dominierendes Nebenprodukt dar und ist nach Chloroform die Verbindung in zweithöchster Konzentration. Dichloressigsäure besitzt saure und hydrophile Eigenschaften und hat einen hohen Anteil an AOX (Kap. 3.1.3). Auch in anderen Untersuchungen stellten halogenierte Essigsäuren nach den leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen den wesentlichen Anteil an der Gesamtheit der Desinfektions-Nebenprodukte (Juuti et al. 1996, Richardson 2003, Nikolaou et al. 2004). In allen Untersuchungen war Dichloressigsäure die dominierende Verbindung aus der Substanzklasse der halogenierten Säuren (Benanou et al. 1998). Als potentielle Ausgangsverbindungen der Dichloressigsäure kommen z.B. Ethanol und Weinsäure in Frage. Bei Verwendung von Hefetrub ist die Bildung von Dichloressigsäure nach Reaktion von Natriumhypochlorit mit verschiedenen Stoffwechsel-Substraten der Hefen, z.B. Verbindungen der Glykolyse und Acetaldehyd, möglich.



### 3.2.3 Halogenierte Aldehyde, Ketone, Acetonitrile und Chlorpikrin

Halogenierte Aldehyde, Ketone, Acetonitrile und Chlorpikrin gehören zu den Nebenprodukten der Desinfektion von Trinkwasser und besitzen toxische Wirkungen. Mit dem Auftreten dieser Verbindungen ist auch im Bereich der Reinigung und Desinfektion in der Weinbereitung zu rechnen.

Es wurden Simulationsversuche nach Kap. 3.1.1 durchgeführt. Die Untersuchung dieser Gruppe der Desinfektionsmittel-Nebenprodukte erfolgte nach Flüssig-/flüssig-Extraktion gaschromatographisch-massenspektrometrisch entsprechend Kap. 6.2.3.1. In Tab. 14 sind die Retentionszeiten und Fragmente der untersuchten Verbindungen aufgeführt. Die Identifizierung wurde im CI-Modus (Reaktand-Gase: Methan und Methanol) abgesichert.

Tab. 14: Retentionszeiten und Massenfragmente von halogenierten Aldehyden, Ketonen, Acetonitrilen und Chlorpikrin

Verbindung	Retentionszeit $R_t$ [min]	$m/z$
Trichloracetonitril	3,7	108/82/73
Trichloracetaldehyd	4,5	117/111/82
Dichloracetonitril	4,7	<b>108</b> /82/74
1,1-Dichlor-2-propanon	5,1	91/83/63
Chlorpikrin	7,1	117/93/82
Bromchloracetonitril	9,4	<b>153</b> /118/74
1,1,1-Trichlorpropanon	11,3	125/117/97/83/61
Dibromacetonitril	21,1	<b>197</b> /118/91

Die quantitative Bestimmung von Trichloracetaldehyd und 1,1,1-Trichlorpropanon erfolgte im SIM-Modus über die charakteristischen Massenfragmente  $m/z = 117/111/82$  bzw.  $m/z = 97/83/61$ .

In Abb. 8 ist das Massenspektrum von Trichloracetaldehyd abgebildet.

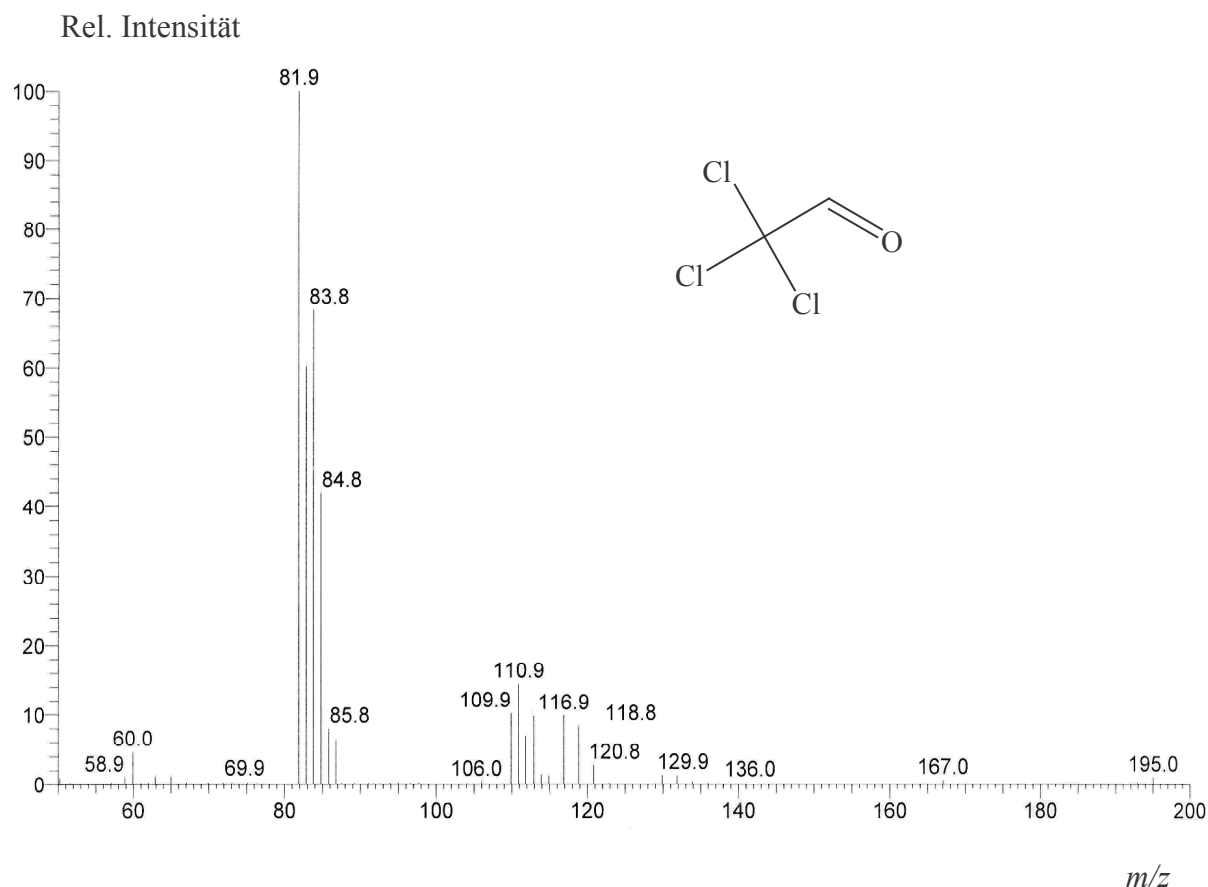


Abb. 8: Massenspektrum von Trichloracetaldehyd (EI-Modus, 70 eV)

### 3.2.3.1 Trichloracetaldehyd

In allen Proben, die mit Natriumhypochlorit behandelt wurden, war Trichloracetaldehyd nachweisbar. Nur bei einer Reaktionstemperatur von 4°C und geringer Natriumhypochlorit-Konzentration war ein Nachweis dieser Verbindung oft nicht möglich.

Die Konzentrationen an Trichloracetaldehyd, die in den untersuchten Hefetrub-Lösungen gemessen wurden, betrugen bis zu 59,0 mg/l. Eine Erhöhung der Konzentration an Natriumhypochlorit hatte eine stärkere Bildung von Trichloracetaldehyd zur Folge. Ebenso war die Bildung von 1,1,1-Trichloracetaldehyd von der Reaktionstemperatur abhängig, die Umsetzung war bei einer Reaktionstemperatur von 30°C stärker als bei einer Reaktionstemperatur von 4°C. Die Umsetzungen von Natriumhypochlorit zu Trichloracetaldehyd in den Hefetrub-Lösungen betrugen maximal 1,21%. Für die untersuchten Rotwein-Lösungen konnten Trichloracetaldehyd-Konzentrationen bis zu 140,6 mg/l gemessen werden. Bei einer Reaktionstemperatur von 4°C wurden Konzentrationen an

Trichloracetaldehyd bis zu 11,8 mg/l gemessen (Tab. 15). Die Trichloracetaldehyd-Bildung war temperaturabhängig. Aus einer Erhöhung der Reaktionstemperatur von 4°C auf 30°C folgte eine 4-5-fache Erhöhung der Konzentration des Analyten. Die intensivere Bildung von Trichloracetaldehyd bei geringeren Konzentrationen an organischem Substrat, die für Lösungen unter Verwendung von Hefetrub festgestellt wurde, konnte auch bei den behandelten Rotwein-Lösungen registriert werden. Die Umsetzungen von Natriumhypochlorit zu Trichloracetaldehyd betrugen maximal 5,84%. Die Entstehung von Trichloracetaldehyd durch direkte Chlorierung von Ethanal, das eine Vorstufe des Ethanolis bei der alkoholischen Gärung darstellt, ist möglich. Aufgrund der geringen Konzentrationen dieser Verbindung in Wein müssen jedoch auch andere Ausgangsverbindungen zur Bildung von Trichloracetaldehyd vorhanden sein.

Tab. 15: Bildung von Trichloracetaldehyd (TCAA) in Rotwein (RW)-Lösungen / Abhängigkeit von Natriumhypochlorit-Konzentration und Temperatur

c (NaOCl) [g/l]	c (TCAA) [mg/l]			
	RW 4%, 4°C	RW 4%, 30°C	RW 10%, 4°C	RW 10%, 30°C
0,365	0,13	1,39	n.n.	0,13
1,46	0,33	23,84	0,75	2,78
3,65	0,39	140,64	0,23	120,14
14,6	11,69	51,29	9,44	35,79

Bei Behandlung von Weißwein-Lösungen betrug die höchste Trichloracetaldehyd-Konzentration bei 30°C 262,6 mg/l und bei 4°C 12,1 mg/l. Eine Verringerung der Konzentration an organischer Substanz hatte eine intensivere Bildung von Trichloracetaldehyd zur Folge. In den behandelten Lösungen, die unter Verwendung von Weißwein hergestellt wurden, war eine höhere Trichloracetaldehyd-Bildung zu verzeichnen als in den entsprechenden Rotwein-Lösungen. Aus Abb. 9, in der die Bildung von Trichloracetaldehyd unter Verwendung dieser Komponenten bei verschiedenen Natriumhypochlorit-Konzentrationen aufgetragen worden ist, wird dieser Sachverhalt ersichtlich.

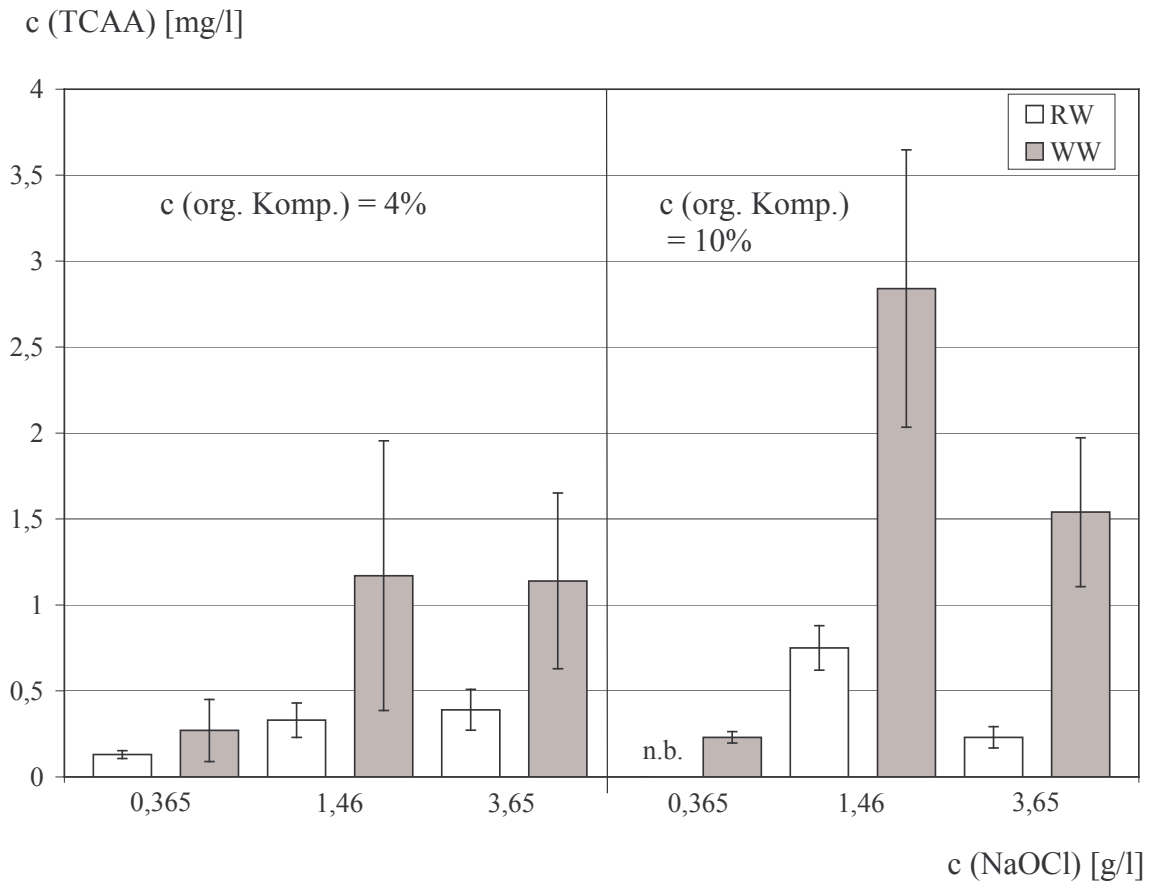


Abb. 9: Vergleich der Bildung von Trichloroacetaldehyd (TCAA) in Rotwein (RW)- und Weißwein (WW)-Lösungen bei einer Reaktionstemperatur von 4°C (n = 2)

Die maximale Umsetzung von Natriumhypochlorit zu Trichloroacetaldehyd betrug 12,71%.

Die intensivere Bildung von Trichloroacetaldehyd bei geringer Konzentration an organischem Substrat könnte durch die Bildung einer größeren Anzahl mehrfach chlorierter kleinerer Verbindungen (Chloroform, Dichloressigsäure, v.a. Trichloroacetaldehyd) im Gegensatz zur Bildung höhermolekularer Verbindungen mit geringerem Chlorierungsgrad bei einem geringeren Überschuss an Natriumhypochlorit erklärt werden.

Bekbolet et al. (2005) konnten in Flusswasser Trichloroacetaldehyd (als Hydrat) in Konzentrationen zwischen 61,3 µg/l und 69,2 µg/l als wesentliches Nebenprodukt der Desinfektion (neben 75,6 µg/l bis 159,4 µg/l Trihalogenmethanen und 89,9 µg/l bis 243 µg/l halogenierten Essigsäuren) nachweisen. Auch in diesen Untersuchungen trat Trichloroacetaldehyd in der dritthöchsten Konzentration auf. Trichloroacetaldehyd wird vom Menschen schnell resorbiert. Nach Metabolisierung zu Trichlorethanol und Trichloressigsäure wird es als Trichlorethanol-Glucuronid ausgeschieden (van Hylckama Vlieg und Janssen 2001, Eisenbrand et al. 2005). Trichloroacetaldehyd besitzt in toxikologischen Studien *in vitro*

mutagene Aktivität. Konzentrationen von 0,01 mg/l im Trinkwasser sollten nicht überschritten werden (Ogilvie 2005). In hoher Konzentration kann Trichloracetaldehyd Lebertumore verursachen (Bekbolet et al. 2005). Daher sollte die Entstehung von Trichloracetaldehyd durch Desinfektionsprozesse vermieden werden. Die Diskussion von Trichloracetaldehyd als Nebenprodukt der Desinfektion im Weinbau erfolgt in Kap. 3.5.4.

### 3.2.3.2 1,1,1-Trichlorpropanon

Die höchste gemessene 1,1,1-Trichlorpropanon-Konzentration in den Proben war 5,6 mg/l in einer 20%-igen Weißwein-Lösung. Die Bildung von 1,1,1-Trichlorpropanon war von der Natriumhypochlorit-Konzentration abhängig. Bei Behandlung der Proben mit Natriumhypochlorit in einer Konzentration von 0,365 g/l bildete sich kein 1,1,1-Trichlorpropanon. Die höchsten 1,1,1-Trichlorpropanon-Gehalte konnten bei einer Natriumhypochlorit-Konzentration von 3,65 g/l nachgewiesen werden, während bei einer stärkeren und geringeren Zugabe niedrigere 1,1,1-Trichlorpropanon-Konzentrationen registriert wurden. Die Bildung von 1,1,1-Trichlorpropanon war temperaturabhängig. Es wurde eine bevorzugte Entstehung bei einer Reaktionstemperatur von 4°C festgestellt. Bei einer Temperatur von 30°C bildete sich bei Natriumhypochlorit-Konzentrationen von 0,365 g/l und 14,6 g/l kein 1,1,1-Trichlorpropanon, bei Natriumhypochlorit-Konzentrationen von 1,46 g/l und 3,65 g/l konnte es nur in wenigen Fällen bei einer Reaktionstemperatur von 30°C nachgewiesen werden, während es bei einer Temperatur von 4°C immer quantifizierbar war. Die maximalen 1,1,1-Trichlorpropanon-Konzentrationen in 20%-igen Rotwein- und Weißwein-Lösungen lagen bei einer Reaktionstemperatur von 30°C bei 1,4 mg/l (RW) bzw. 1,0 mg/l (WW) ( $c(\text{NaOCl}) = 3,65 \text{ g/l}$ ). Die Art und Konzentration der organischen Komponente in den Lösungen spielte bei der Bildung von 1,1,1-Trichlorpropanon eine wichtige Rolle. In Proben, die unter Verwendung von Hefetrub angesetzt wurde, konnte kein 1,1,1-Trichlorpropanon nachgewiesen werden. In den Rotwein- und Weißwein-Lösungen hatte eine Erhöhung der Konzentration dieser Komponenten eine stärkere Bildung von 1,1,1-Trichlorpropanon zur Folge. So konnte in Lösungen, in denen Natriumhypochlorit in einer Konzentration von 14,6 g/l verwendet wurde, ausschließlich bei hohen Gehalten an organischer Komponente 1,1,1-Trichlorpropanon quantifiziert werden, während bei geringeren Konzentrationen kein Nachweis möglich war. In Abb. 10 werden die durchschnittlichen Konzentrationen an 1,1,1-Trichlorpropanon bei verschiedenen

Konzentrationen an Rotwein und Weißwein bei einer Reaktionstemperatur von 4°C und Natriumhypochlorit-Konzentration von 3,65 g/l dargestellt.

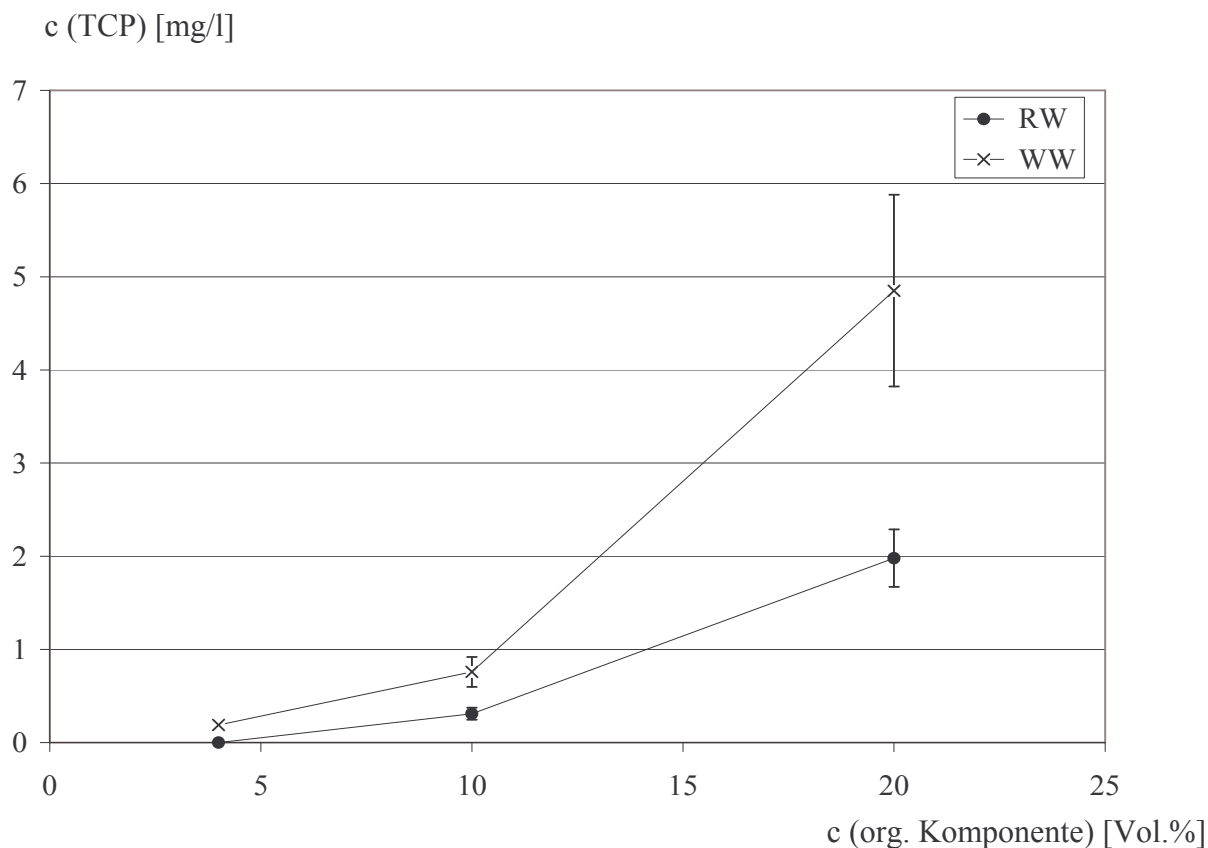


Abb. 10: Abhängigkeit der 1,1,1-Trichlorpropanon (TCP)-Bildung von der Konzentration an organischer Komponente

Die Umsetzungen von Natriumhypochlorit zu 1,1,1-Trichlorpropanon betrugen bis zu 0,21%. Die Untersuchungen haben gezeigt, dass 1,1,1-Trichlorpropanon nach Chloroform, Dichloressigsäure und Trichloracetaldehyd das wichtigste Nebenprodukt der Desinfektion mit Natriumhypochlorit in der Weinbereitung ist. Diese Ergebnisse stimmen mit den von Kim et al. (2003) publizierten Daten überein, bei denen sich die untersuchten halogenierten Nebenprodukte aus 39-66% leichtflüchtigen Kohlenwasserstoffen, 6-42% Essigsäuren, 6-21% Acetonitrilen und 2-7% Ketonen zusammensetzten. Die Bildung der Nebenprodukte der Desinfektion wurde durch eine intensive Haloform-Reaktion erklärt. Nach Behandlung von Lösungen mit hohen Gehalten an Huminsäuren mit Natriumhypochlorit war 1,1,1-Trichlorpropanon nach Chloroform, Dichlor- und Trichloressigsäure die vierthäufigste halogenierte Verbindung (Meier et al. 1985). Ausgangsverbindungen von 1,1,1-Trichlorpropanon im Weinbau könnten 2-Propanon, Glycerin und einige weitere Verbindungen sein. Chlorierte Propanone werden von der WHO als Substanzen aufgeführt,

die im Trinkwasser eine Gesundheitsgefahr für die Bevölkerung darstellen (WHO 1994). Im “Ames-Test“ (Mutagenitätstest mit *Salmonella typhimurium*, Bestimmung von Mutationen über Nutzung von Histidin als Wachstumssubstrat) und SOS Chromotest (Genotoxizitätstest mit *Escherichia coli*, Bestimmung der Genotoxizität von Substanzen über einen Anstieg bestimmter Expressionen von Genen nach DNA-Schädigung) zeigt 1,1,1-Trichlorpropanon eine hohe mutagene und genotoxische Aktivität (Curieux et al. 1994). Der Eintrag von 1,1,1-Trichlorpropanon in Gewässer sollte vermieden werden.

### 3.2.4 Halogenierte aromatische Säuren

Abwässer aus der Weinbereitung haben hohe Gehalte an (poly-)aromatischen Verbindungen. Dabei handelt es sich nicht nur um die gut untersuchten farbgebenden Anthocyane im Rotwein, sondern eine Vielzahl an Stilbenen (z.B. *trans*-Resveratrol), Terpenen (z.B. Geraniol), Benzoesäure- und Zimtsäure-Derivaten, Flavonoiden (z.B. Quercetin- und Kaempferol-Glucoside) und Lignan (z.B. Isolariciresinol) (Baderschneider und Winterhalter 2000 und 2001). Nach Behandlung mit Natriumhypochlorit können sich aus diesen Verbindungen halogenierte aromatische Säuren bilden.

In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Bildungssituationen von aromatischen halogenierten Säuren während der Desinfektion dargestellt (Kap. 3.1.1). Die Untersuchung der Proben erfolgte im EI- und CI-Modus (Kap. 6.2.4). Bei den untersuchten Verbindungen handelte es sich um 2-Chlor- und 2,4-Dichlorphenylelessigsäure, 2-Chlor- und 2,4-Dichlorbenzoesäure sowie 4,5-Dichlorphthalsäure, deren Retentionszeiten und Massenfragmente in Tab. 16 aufgeführt werden.

Tab. 16: Retentionszeiten und Massenfragmente von aromatischen Säuren (als Methylester)

Verbindung	Retentionszeit $R_t$ [min]	$m/z$
2-Chlorbenzoesäure	20,3	<b>170</b> /139/111
2,4-Dichlorbenzoesäure	24,1	<b>204</b> /173/145
2-Chlorphenylelessigsäure	22,4	149/125/89
2,4-Dichlorphenylelessigsäure	26,6	183/159/123
4,5-Dichlorphthalsäure	32,1	<b>262</b> /231/201

**2-Chlorphenylelessigsäure** wurde bei einer Natriumhypochlorit-Konzentration von 1,46 g/l in einigen Proben nachgewiesen. Tab. 17 gibt einen Überblick über die Konzentrationen der 2-Chlorphenylelessigsäure in verschiedenen Lösungen.

Tab. 17: Bildung von 2-Chlorphenylelessigsäure (CPE) in Modell-Lösungen

Org. Komponente	c (CPE) [ $\mu\text{g/l}$ ]	
	T = 4°C	T = 30°C
RW 4%	n.n.	n.n.
RW 10%	n.n.	n.n.
RW 20%	n.n.	n.n.
WW 4%	0,7	0,2
WW 10%	1,6	n.n.
WW 20%	1,0	1,6
HT 1%	1,7	0,3
HT 8%	n.n.	n.n.

RW: Rotwein; WW: Weißwein; HT: Hefetrub

Wurde die Konzentration von Natriumhypochlorit auf 14,6 g/l erhöht, so bildete sich in fast allen Proben 2-Chlorphenylelessigsäure. Die höchsten 2-Chlorphenylelessigsäure-Konzentrationen wurden in Hefetrub-Lösungen bei einer Reaktionstemperatur von 4°C gemessen und betrugen im Durchschnitt 49,8  $\mu\text{g/l}$  (HT 1%) und 78,1  $\mu\text{g/l}$  (HT 8%). Bei 30°C waren geringere Konzentrationen von durchschnittlich 1,9  $\mu\text{g/l}$  und 4,8  $\mu\text{g/l}$  feststellbar, was auf einen weiteren Zerfall der Verbindungen (bzw. des aromatischen Ringes) zu kleineren Molekülen in Oxidations- und Halogenierungsreaktionen hindeutet. Abb. 11 zeigt die Bildung von 2-Chlorphenylelessigsäure nach Behandlung mit 14,6 g/l Natriumhypochlorit.

**2,4-Dichlorphenylelessigsäure** wurde bei einer Reaktionstemperatur von 4°C nur in 1%-igen Hefetrub-Lösungen, die mit 14,6 g/l Natriumhypochlorit behandelt wurden, in einer durchschnittlichen Konzentration von 10,4  $\mu\text{g/l}$  nachgewiesen. Bei einer Reaktionstemperatur von 30°C konnte nach Behandlung mit 1,46 g/l Natriumhypochlorit in keiner Probe 2,4-Dichlorphenylelessigsäure nachgewiesen werden, bei einer Konzentration von 14,6 g/l bildete sich diese Substanz in vielen Lösungen. So konnten in einer 4%-igen Rotwein-Lösung durchschnittlich 1,6  $\mu\text{g/l}$  2,4-Dichlorphenylelessigsäure bestimmt werden, in Weißwein-Lösungen 0,9  $\mu\text{g/l}$  (WW 4%) und 0,8  $\mu\text{g/l}$  (WW 10%) und in Hefetrub-Lösungen 0,2  $\mu\text{g/l}$  (HT 1%) und 0,4  $\mu\text{g/l}$  (HT 8%). Die Chlorierung von Phenylelessigsäuren als Ursache für die Entstehung dieser Verbindungen ist unwahrscheinlich, da in Weintrauben keine Derivate der



Phenyllessigsäure in höherer Konzentration vorhanden sind. Die Bildung von Chlorphenyllessigsäuren aus Zimtsäure-Derivaten wie p-Cumarsäure, Kaffeesäure oder Ferulasäure sowie verschiedene Phenolcarbonsäuren (v.a. Weinsäureester) nach Behandlung mit Natriumhypochlorit könnte jedoch möglich sein.

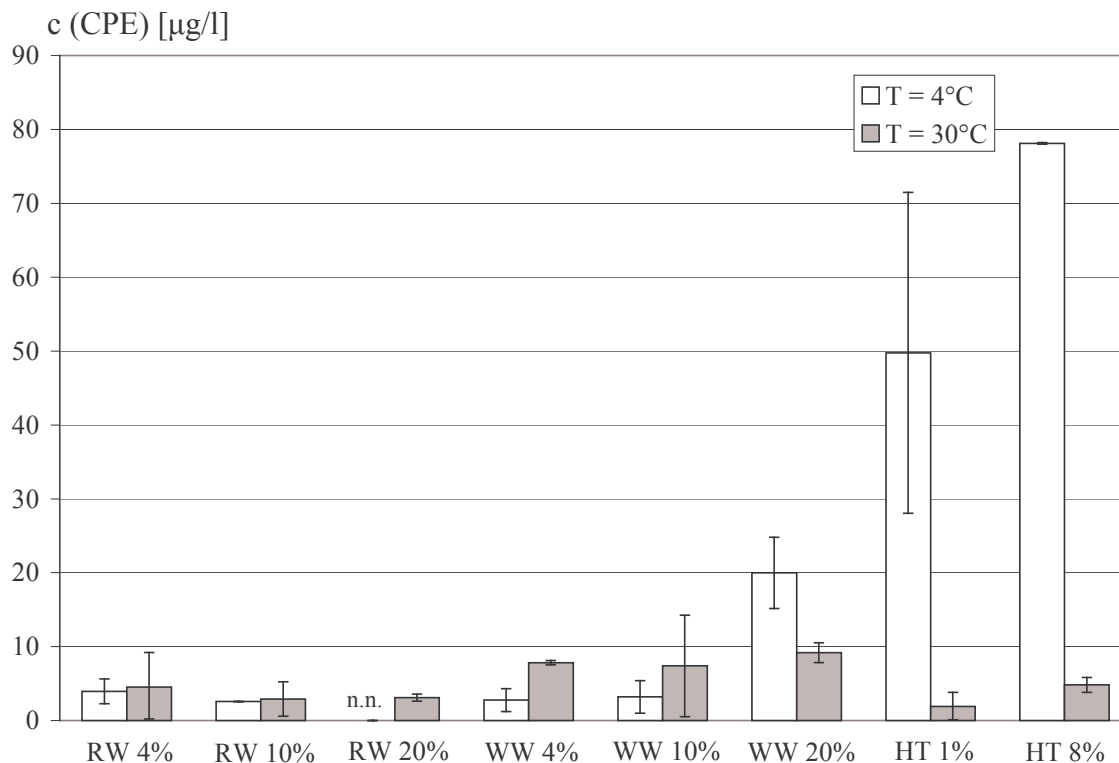


Abb. 11: Bildung von 2-Chlorphenyllessigsäure (CPE) bei verschiedenen Temperaturen in Rotwein (RW)-, Weißwein (WW)- und Hefetrub (HT)-Lösungen (n = 4)

**2,4-Dichlorbenzoesäure** bildete sich bei einer Reaktionstemperatur von 4°C nur nach Behandlung einer 1%-igen Hefetrub-Lösung mit 1,46 g/l Natriumhypochlorit ( $c(\text{DCB}) = 1,3 \mu\text{g/l}$ ) und in einer 4%-igen Weißwein-Lösung nach Behandlung mit 14,6 g/l Natriumhypochlorit ( $c(\text{DCB}) = 3,1 \mu\text{g/l}$ ). Bei 30°C bildete sich bei einer Natriumhypochlorit-Konzentration von 14,6 g/l keine 2,4-Dichlorbenzoesäure. Bei der niedrigen Konzentration von 1,46 g/l war die Substanz in Weißwein- und Hefetrub-Lösungen quantifizierbar. Die durchschnittlichen Konzentrationen betrugen  $0,3 \mu\text{g/l}$ ,  $0,5 \mu\text{g/l}$  und  $0,1 \mu\text{g/l}$  für Weißwein-Lösungen 4%, 10% und 20%,  $0,6 \mu\text{g/l}$  für 1%-ige Hefetrub-Lösungen ( $T = 30^\circ\text{C}$ ,  $\text{NaOCl}$  1,46 g/l). Ausgangsverbindungen der 2,4-Dichlorbenzoesäure könnten entsprechende Benzoesäure-Derivate sein, die in Wein in höheren Konzentrationen zu finden sind. So werden Konzentrationen von p-Hydroxy-Benzoesäure zwischen 50 mg/kg und 100 mg/kg, Vanillinsäure von 15 mg/kg und Gallussäure von 8 mg/kg in Weintrauben angegeben (Sponholz 1989). In Abb. 12 ist das Massenspektrum von Dichlorbenzoesäure (als Butylester

/ Derivatisierung in Anlehnung an eine Methode von Töpfer 1999) nach chemischer Ionisation mit Methan dargestellt.

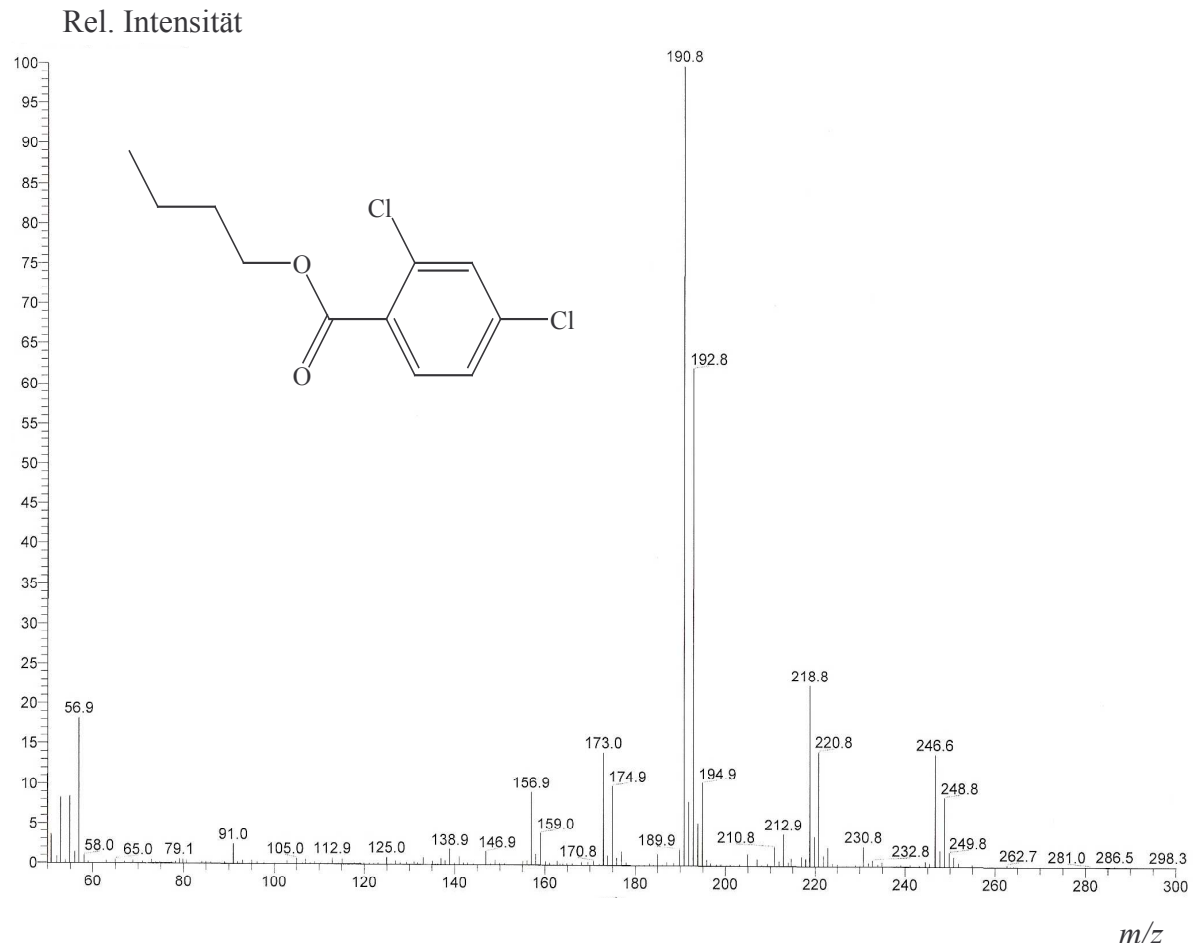


Abb. 12: Massenspektrum von 2,4-Dichlorbenzoesäure (als Butylester) (CI-Modus Methan)

Bei Einsatz von Natriumhypochlorit konnten unter keinen Bedingungen **2-Chlorbenzoesäure** und **4,5-Dichlorphthalsäure** nachgewiesen werden.

### 3.2.5 Halogenierte Phenole, 2-Chloranilin

Phenolische Verbindungen in Gewässern haben natürliche, industrielle, häusliche und landwirtschaftliche Quellen. In Most und Wein sind diese Substanzen in Konzentrationen zwischen  $\leq 0,2$  g/l und mehr als 2,5 g/l vorhanden (Belitz und Grosch 1992). Werden diese Verbindungen chlorhaltigen Mitteln ausgesetzt, so können durch Substitutionsreaktionen chlorierte Phenole entstehen, die sich nicht nur in einem unangenehmen Geruch und Geschmack äußern, sondern insbesondere toxische Wirkungen besitzen (Letizia Davì und

Gnudi 1999, Sadiq und Rodriguez 2004). Die WHO hat maximal zulässige Konzentrationen für Phenole in Trinkwasser empfohlen (2,4,6-Trichlorphenol: 200 µg/l, Pentachlorphenol: 9 µg/l, 2-Chlorphenol: 10 µg/l, 2,4-Dichlorphenol: 40 µg/l). Die Ergebnisse der AOX-Fraktionierungen deuten darauf hin, dass es sich bei einem Teil der AOX in der Weinbereitung um Phenole handeln könnte.

Bei der Verbindung 2-Chloranilin handelt es sich um eine giftige und umweltgefährdende Chemikalie. Die giftige Wirkung tritt insbesondere gegen Wasserorganismen auf. In Gewässern ist eine längerfristige schädliche Wirkung bei Vorhandensein von 2-Chloranilin zu erwarten.

Für die Bestimmung chlorierter Phenole und von 2-Chloranilin wurden in eigenen Untersuchungen verschiedene Festphasenextraktionen (SPE) und Flüssig-/flüssig-Extraktionen nach Kap. 6.2.5 durchgeführt. Bei den untersuchten Verbindungen handelte es sich um 2-Chlorphenol, 2-Chloranilin, 2,4-Dichlorphenol, 4-Chlor-3-methylphenol, 2,4,6-Trichlorphenol und Pentachlorphenol sowie verschiedene unhalogenierte Phenole (Abb. 13).

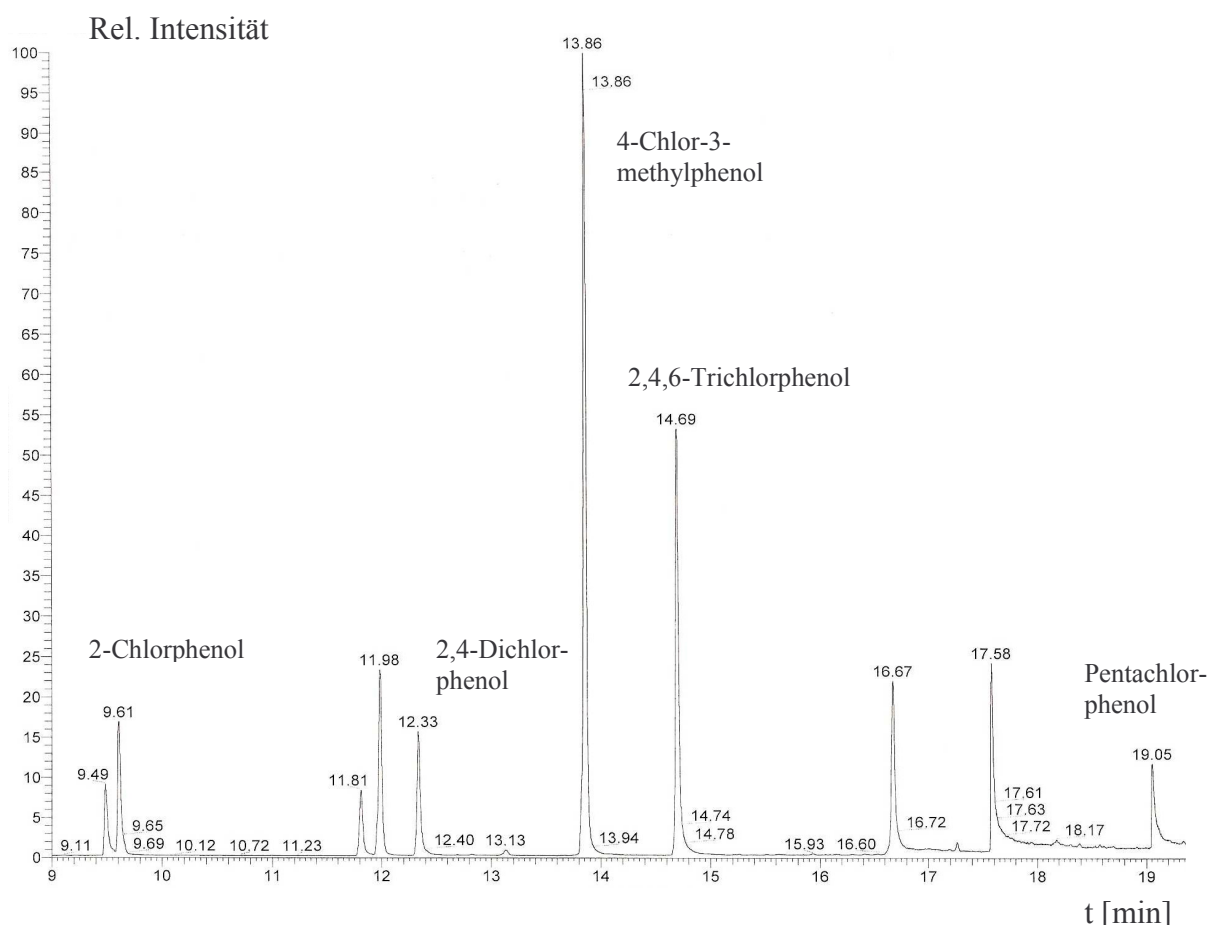


Abb. 13: Gaschromatogramm der Phenole (TIC)

Für den qualitativen Nachweis von Phenolen und Anilinen mit Hilfe der GC-MS/MS-Technik wurden Tochtterspektren durch Fragmentierung der Target-Ionen  $m/z = 128$  (2-Chlorphenol),  $m/z = 127$  (2-Chloranilin),  $m/z = 162$  (2,4-Dichlorphenol),  $m/z = 196$  (2,4,6-Trichlorphenol) und  $m/z = 264$  (Pentachlorphenol) aufgenommen.

Es wurden verschiedene Bildungssituationen für AOX mit Natriumhypochlorit simuliert (Kap. 3.1.1) und Lösungen untersucht, in denen hohe AOX-Gehalte gemessen worden waren. Es konnten in keiner untersuchten Probe halogenierte Phenole und 2-Chloranilin nachgewiesen werden. In den Versuchen wurde Natriumhypochlorit in großem Überschuss zugegeben. Es ist möglich, dass chlorierte Phenole durch oxidative Spaltung zu kleineren halogenierten Molekülen zerfallen sind. Da die Reaktionen im alkalischen Milieu ablaufen, aktivieren die freien Elektronenpaare von Hydroxygruppen in Phenolat-Ionen den aromatischen Kern (+ M-Effekt) und erleichtern die Chlorierung. Bei einer höheren Anzahl an Chlor-Substituenten deaktivieren diese den aromatischen Ring. Es findet dann keine weitere Chlorierung statt. Die Oxidation durch den Sauerstoff aus dem Natriumhypochlorit ist in der folgenden Reaktion bevorzugt. Bei der Spaltung des aromatischen Ringes könnten z.B. halogenierte Säuren entstehen (z.B. Chlormaleinsäuren aus Chinon-Derivaten), die nach weiteren Reaktionen als Dichloressigsäure bestimmbar sind.

### 3.2.6 Halogenierte Anisole

Chlorierte Anisole sind vor allem im Zusammenhang mit Aromafehlern in das wissenschaftliche Interesse gerückt. Vor allem die Verbindung 2,4,6-Trichloranisol ist neben anderen Fehlnoten für den „Korkgeschmack“ des Weines verantwortlich. Das Fehl aroma tritt je nach Land und Jahrgang in 0,5% bis 6% der gesamten Flaschenproduktion auf (Lee und Simpson 1993). Für die Entstehung dieses Weinfehlers werden drei Wege diskutiert, wobei Schimmelpilze eine Methylierung genuiner Phenole bewirken und der Chloranteil durch Pflanzenschutzmittel oder bei der Bleichung der Korken durch Hypochlorite eingebracht wird (Bonnländer 2002). Chlorierte Phenole (insbesondere PCP) und Benzole gelten als Verbindungen, aus denen durch mikrobiellen Abbau 2,4,6-Trichloranisol entstehen kann. Werden chlorierte Anisole in die Luft freigesetzt, so machen sie sich durch einen schimmelig-muffigen Geruch bemerkbar. In Tab. 18 werden Geruchsschwellenwerte und -qualitäten verschiedener chlorierter Anisole aufgeführt.

Tab. 18: Geruchsschwellen / -qualität von Chloranisolen in Flüssigkeiten

Verbindung	c (ng/l)	Geruchsqualität und -intensität	Referenz
2,4,6-Trichloranisol	0,006	schimmelig, <i>intensiv</i>	Illy (2003)
Trichloranisole (TCA: 2,3,6-TCA; 2,3,4-TCA)	0,1-2	schimmelig, muffig, <i>ultra-intensiv</i>	Benanou (2003)
2,3,4,6-Tetrachloranisol	TCA x 100	muffig, <i>intensiv</i>	Fischer und Fischer (1997)
2,3,4,5,6-Pentachloranisol	TCA x 105	muffig, <i>mäßig intensiv</i>	Fischer und Fischer (1997)

Die chlorierten Anisole werden durch den Summenparameter AOX erfasst. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die direkte Bildung dieser Verbindungen während der Desinfektion untersucht. Es kam die „Purge-and-Trap“-Methode zur Anwendung, die auch bei der Analytik leichtflüchtiger halogener Kohlenwasserstoffe Anwendung fand. Des Weiteren wurden Untersuchungen unter Einsatz der Festphasenmikroextraktion (SPME) durchgeführt, bei der eine Carboxen-/Polydimethylsiloxan-Faser nach Erhitzen der Lösungen in einem geschlossenen Vial nach Gleichgewichtseinstellung in die Gasphase eingeführt wurde. Nach Adsorption der Komponenten wurde die SPME-Faser in den Injektorblock eingebracht und die Substanzen eluiert. Die Bedingungen der Probenaufgabe werden in Kap. 6.2.6 genannt. Als Referenzsubstanzen wurden 2,4-Dichloranisol und 2,4,6-Trichloranisol verwendet, die über die Massen  $m/z = 176/161/133$  (2,4-Dichloranisol) bzw.  $m/z = 210/195/167$  (2,4,6-Trichloranisol) (Abb. 14) identifiziert wurden.

Für die Untersuchung der direkten Bildung von halogenierten Anisolen bei Einsatz von Natriumhypochlorit wurden Simulationsversuche gemäß Kap. 3.1.1 durchgeführt. Die Proben wurden im TIC und MS/MS-Modus vermessen (Selektierung der Massen  $m/z = 176$  bzw. 210), jedoch konnten in keiner Probe 2,4-Dichloranisol oder 2,4,6-Trichloranisol nachgewiesen werden.

Es wurde keine direkte Bildung halogener Anisole bei Einsatz von Natriumhypochlorit festgestellt. Die Entstehung der Verbindungen durch mikrobielle Aktivität bei Eintrag von Natriumhypochlorit ist jedoch möglich. Die Vermeidung des Einsatzes von Natriumhypochlorit als Desinfektionsmittel in der Weinbereitung verringert die Gefahr der Entstehung des „Korkgeschmackes“, jedoch ist die Bildung halogener Anisole und anderer Fehleraromen (z.B. Geosmin, 2-Methylisoborneol, 1-Octen-3-ol u.a.) durch den Verzicht auf chlorhaltige Wirkstoffe nicht auszuschließen. In diesem Zusammenhang ist auch die Kontamination von Wein mit Pflanzenschutzmitteln zu diskutieren. So kann aus dem im

Weinbau eingesetzten Fungizid Prochloraz durch Spaltung einer Kohlenstoff-Bindung 2,4,6-Trichloranisol entstehen.

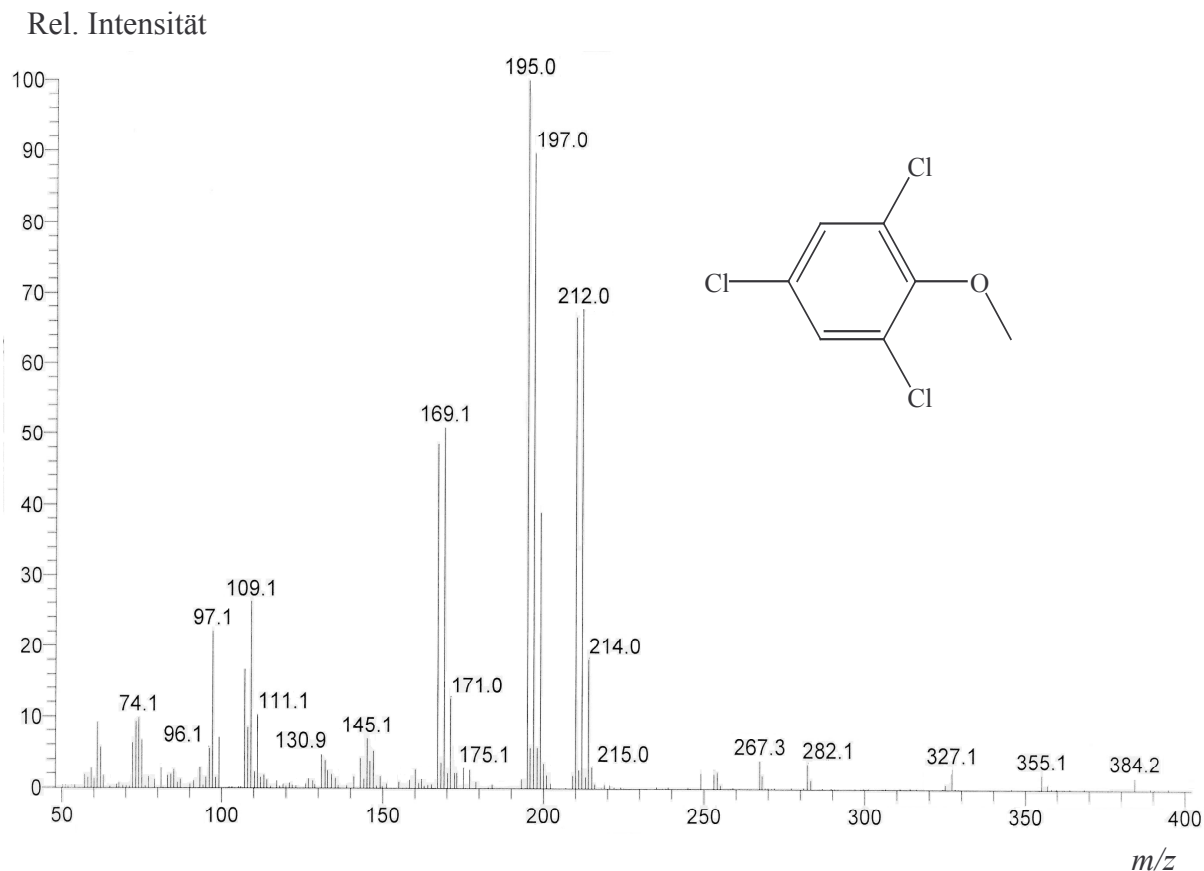


Abb. 14: Massenspektrum von 2,4,6-Trichloranisol (EI-Modus, 70 eV)

### 3.2.7 3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon

Bei 3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon (MX) handelt es sich um eine Verbindung, die sich bei Einsatz von chlorhaltigen Mitteln bilden kann und die sich im Ames-Test als stark mutagen erwiesen hat (Hemming et al. 1986). Dabei soll MX für 15-57% der totalen mutagenen Aktivität in chloriertem Trinkwasser verantwortlich sein (Kronberg und Vertiainen 1988). Potentielle Quellen dieser Verbindung sind Fulvinsäuren, Huminsäuren und hydrophobe neutrale Substanzen (Xu et al. 1997). Dabei müssen Precursoren von MX insbesondere einen aromatischen Ring sowie eine Aldehydgruppe besitzen (Junhe et al. 2002). Das Auftreten von MX nach Anwendung von Natriumhypochlorit während der Weinbereitung ist möglich und muss aufgrund der toxikologischen Eigenschaften dieser Verbindung vermieden werden.

Die Untersuchung von MX erfolgte in Anlehnung an Methoden von Xu et al. (1997) und Junhe et al. (2002). Für die Untersuchung dieser Verbindung wurden die schwefelsauren Lösungen mit Diethylether extrahiert und nach weiterer Aufarbeitung mit methanolischer Bortrifluorid-Lösung methyliert und mit Hexan ausgeschüttelt (Kap. 6.2.7). Die gaschromatographischen Bedingungen sind in Tab. 34 wiedergegeben. Die charakteristischen Fragmente von MX sind  $m/z = 199$ , 147 und 117. Der zur Überprüfung der Methode verwendete Standard 2,4-Dichlor-5-fluoracetophenon wies die Massen  $m/z = 206$ , 191 und 163 auf. Die Untersuchungen wurden im TIC- und SIM-Modus durchgeführt, des Weiteren wurden die charakteristischen Massen mittels MS/MS-Kopplung zugeordnet.

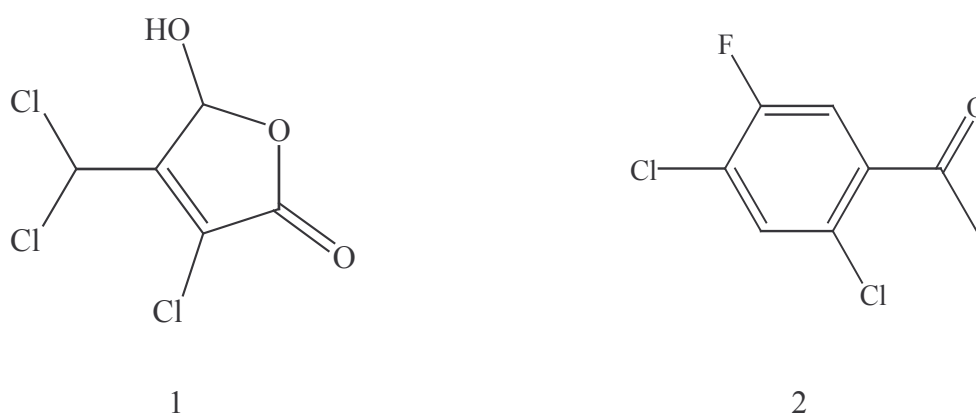


Abb. 15: Strukturformeln von 3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon (MX) (1) und 2,4-Dichlor-5-fluoracetophenon (2)

Es wurden Modell-Lösungen mit hohen Gehalten an AOX aufgearbeitet und untersucht. Die stark mutagen wirkende Verbindung 3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon wurde bei der Behandlung mit Natriumhypochlorit nicht nachgewiesen. Der Einsatz von Natriumhypochlorit in der Weinbereitung führt nicht zur Bildung dieses toxikologisch sehr problematischen Nebenproduktes.

### 3.3 Verhalten von freien Aminosäuren während der Desinfektion

#### 3.3.1 Vorkommen und Reaktion von Aminosäuren in Weinbau-Abwasser

Freie Aminosäuren stellen einen bedeutenden Anteil am Gesamt-Stickstoffgehalt in Most und Wein dar und liegen in Weinbauabwässern in relevanter Menge vor. In Rot- und Weißwein

kann von einem Gehalt an Aminosäuren von ungefähr 0,25 g/l ausgegangen werden (Soleas et al. 1997). In Tab. 19 werden die wichtigsten Aminosäuren im Most, die in Abwässer der Weinbereitung gelangen, aufgeführt (Bayerische Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau 2005).

Tab. 19: Aminosäure-Gehalte im Most verschiedener Rebsorten (Mittelwerte 1999-2004)<sup>1</sup> (nach Schwab 2005)

Rebschnitt:	<b>Bacchus</b>		<b>Müller-Thurgau</b>		<b>Silvaner</b>	
	gering	normal	gering	normal	gering	normal
Gesamtstickstoff	284	229	296	258	593	579
Freie Aminosäuren	1434	1043	1338	992	2203	2224
L-Arginin	402	238	370	259	969	1036
L-Glutamin	206	113	120	90	300	197
L-Prolin	106	134	187	137	49,6	114
L-Methionin	8,8	4,9	7,3	3,9	14,4	12,2

(<sup>1</sup> Angaben in mg/l)

Bei der Behandlung von Aminosäuren mit Natriumhypochlorit ist die Entstehung von N-Chloramino-Verbindungen, aber auch der weitere Zerfall dieser intermediären Zwischenprodukte zu Aldehyden und Nitrilen möglich. Diese Verbindungen entstehen in Abhängigkeit von der Natriumhypochlorit-Konzentration nach Bildung von N-Chloramino- und N,N-Dichloramino-Verbindungen, anschließender Abspaltung von Kohlendioxid und Chlorid und folgender Abspaltung von Ammoniak und Wasser (Bildung von Aldehyden) bzw. Wasserstoffchlorid (Bildung von Nitrilen). In Vorversuchen waren die Aldehyde geruchlich intensiv wahrnehmbar, deren Bildung als Fehlaromen in Getränken aus Aminosäuren durch den Strecker-Abbau bekannt ist. In Abb. 16 wird der Reaktionsmechanismus der Chlorierung von Aminosäuren dargestellt.



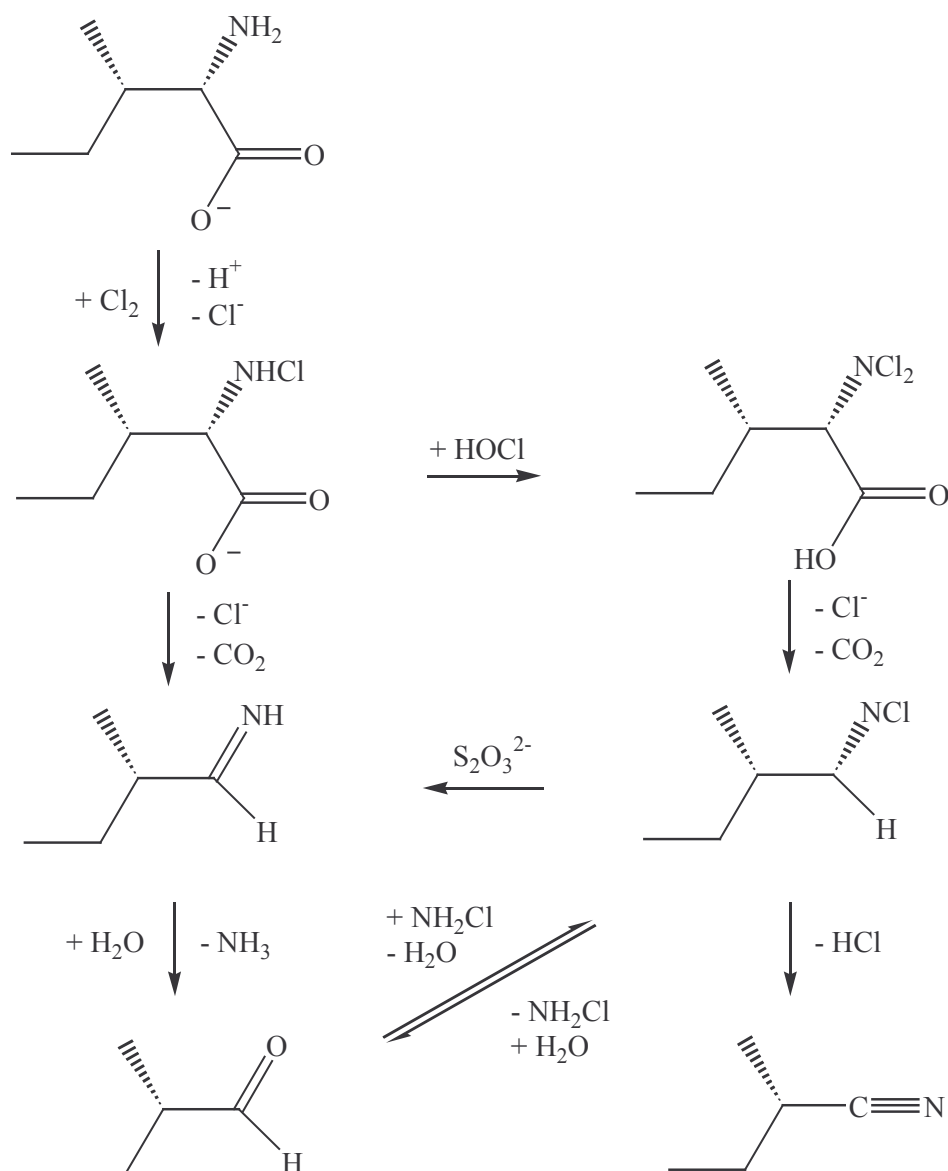


Abb. 16: Reaktionsmechanismus der Chlorierung von Aminosäuren, Bildung von Aldehyden/Nitrilen (nach Nweke und Scully 1989)

Es wurde eine Butylierungsmethode in Anlehnung an Töpfer (1999) modifiziert, um bei der Behandlung mit Natriumhypochlorit nicht umgesetzte Aminosäuren bestimmen zu können (Kap. 6.4). Für die zu erwartenden Aldehyde und Nitrile wurden gaschromatographische Bestimmungsmethoden entwickelt. Anschließend wurden unter definierten Bedingungen Aminosäuren mit Natriumhypochlorit behandelt. Die entstehenden Produkte wurden qualitativ bestimmt. Für die quantitative Bestimmung der Umsetzung von Aminosäuren wurde Phenylalanin ausgewählt.

### 3.3.2 Umsetzung von Aminosäuren zu Nitrilen und Aldehyden

Die Derivatisierungsmethode mit Butylchlorformiat bietet die Möglichkeit, Aminosäuren gaschromatographisch zu erfassen. Als Modell-Verbindungen wurden Anilin, Leucin, Prolin, Phenylalanin, Glutaminsäure, Tyrosin und Tryptophan gewählt. Nach Zugabe von Pyridin als Katalysator, Derivatisierung im Ultraschallbad und Extraktion mit Toluol wurden die Aminosäuren gaschromatographisch bestimmt (Kap. 6.4). Die Retentionszeiten und Massenfragmente der Verbindungen sind in Tab. 20 dargestellt.

Tab. 20: Retentionszeiten und Massenfragmente unchlorierter Aminosäuren (als Butylester)

Verbindung	Retentionszeit $R_t$ [min]	$m/z$
Alanin	18,2	<b>144</b> /88/57
Leucin	19,3	<b>186</b> /130/86
Prolin	23,1	<b>170</b> /114/70
Phenylalanin	29,7	<b>220</b> /204/148/120
Glutaminsäure	31,1	<b>258</b> /184/156/84
Tyrosin	48,1	220/164/107
Tryptophan	49,5	360/286/130

Für die Qualifizierung der Aldehyde und Nitrile wurden Lösungen von Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan und Leucin in einer Konzentration von 0,1 g/l angesetzt und mit Natriumhypochlorit behandelt (molares Verhältnis NaOCl:Aminosäure 1,5:1). Die Reaktionstemperatur war 30°C und die Reaktionszeit betrug 45 min. Diese Proben wurden nach Beendigung der Reaktion mit Toluol extrahiert. Die Qualifizierung der Aldehyde und Nitrile wurde im EI- und CI-Modus (Reaktand-Gas: Methan) durchgeführt.

Das aus Phenylalanin entstehende **Phenylacetaldehyd** konnte entsprechend Kap. 6.4 nach 12,1 Minuten über die Massen  $m/z = 120/91/65$  identifiziert werden. Die Fragmentierung des Ions  $m/z = 120$  im MS/MS-Modus bestätigte die Identifizierung der Verbindung über das Tochter-Ion  $m/z = 91$  (Abspaltung  $\text{CHO}^+$ -Fragment). **Phenylacetonitril** konnte nach einer Retentionszeit von 14,9 Minuten ( $m/z = 117/90/63$ ) identifiziert werden. Nach chemischer Ionisation mit Methan traten die Massen  $m/z = 158$  ( $\text{M}+\text{C}_3\text{H}_5^+$ ), 146 ( $\text{M}+\text{C}_2\text{H}_5^+$ ) und 130 ( $\text{M}+\text{CH}^+$ ) auf. Die Verbindung **4-Hydroxyphenylacetaldehyd** (Bildung aus Tyrosin) hatte eine Retentionszeit von 10,4 Minuten ( $m/z = 136/107/77$ ). **Indol-3-acetaldehyd** (aus

Tryptophan) ließ sich nach einer Retentionszeit von 10,4 Minuten über die Fragmente  $m/z = 159/130/103/77$  identifizieren. Bei Messung im CI-Modus traten die Addukt-Ionen  $(M+C_2H_5)^+ = 188$  und  $(M+C_3H_5)^+ = 200$  auf. Die Masse  $m/z = 160$  erklärt sich durch eine Protonierungsreaktion, das dominierende Fragment der Masse  $m/z = 118$  durch Abspaltung der Carbonyl-Funktion, anschließende Umlagerung der Elektronenpaare im heterocyclischen System und Abspaltung des Kohlenstoffs in Position 2 des heteroaromatischen Ringes. **Isovaleronitril** konnte in den Lösungen unter Verwendung von Leucin nachgewiesen werden ( $R_t = 8,6$  min,  $m/z = 84/57$ ). Im CI-Modus traten neben dem dominierenden Fragment  $m/z = 84$  die charakteristischen Addukt-Ionen  $m/z = 124$  und  $m/z = 112$  auf.

Die quantitative Umsetzung von Aminosäuren zu Aldehyden und Nitrilen wurde am Beispiel von Phenylalanin untersucht, das bei der Behandlung mit Natriumhypochlorit zu Phenylacetaldehyd und Phenylacetonitril reagiert. Phenylacetaldehyd konnte aufgrund eines geringen Geruchsschwellenwertes von 4 µg/l bei der Behandlung der Proben auch sensorisch gut wahrgenommen werden.

Es wurden Lösungen von Phenylalanin in den Konzentrationen  $c = 600, 100, 50, 40, 20$  und  $10$  mg/l angesetzt. Die Lösungen wurden mit Natriumhypochlorit in den Konzentrationen  $c = 14,6$  g/l und  $1,46$  g/l sowie 1,5-fachem molaren Überschuss versetzt. Die Reaktionstemperaturen betrugen  $4^\circ\text{C}$  und  $30^\circ\text{C}$ , die Reaktionszeit war 45 Minuten entsprechend den in den Modell-Versuchen zur Simulation von AOX-Bildungssituationen genannten Bedingungen.

### Phenylacetaldehyd

Bei Zugabe von Natriumhypochlorit in großem Überschuss konnte bei einer Reaktionstemperatur von  $30^\circ\text{C}$  kein Phenylacetaldehyd nachgewiesen werden. Bei der Reaktionstemperatur  $4^\circ\text{C}$  war Phenylacetaldehyd bestimmbar. Die prozentuale Umsetzung von Phenylalanin betrug bis zu 2,8%. In den Proben, in denen Natriumhypochlorit in geringerem Überschuss zugegeben wurde, waren höhere Umsetzungsraten zu verzeichnen. Bei der Reaktionstemperatur  $30^\circ\text{C}$  lagen die Umsetzungen zwischen 6,4% und 29,8%, bei der Reaktionstemperatur  $4^\circ\text{C}$  zwischen 17,8% und 44,2%. In Abb. 17 ist die Temperaturabhängigkeit der Umsetzung von Phenylalanin zu Phenylacetaldehyd nach Behandlung mit  $1,46$  g/l Natriumhypochlorit dargestellt. Bei  $4^\circ\text{C}$  bildete sich mehr Phenylacetaldehyd als bei  $30^\circ\text{C}$ . Die höchsten Umsetzungen zu Phenylacetaldehyd konnten bei 1,5-fachem molaren Überschuss an Natriumhypochlorit gemessen werden. Hier betrugen die Umsetzungsraten zwischen 37,9% und 56,2% ( $T = 30^\circ\text{C}$ ) bzw. 16,4% und 33,8% ( $T =$

4°C). In diesen Lösungen waren die Umsetzungen bei höheren Temperaturen größer (Übereinstimmung mit Ergebnissen von Nweke und Scully 1989).

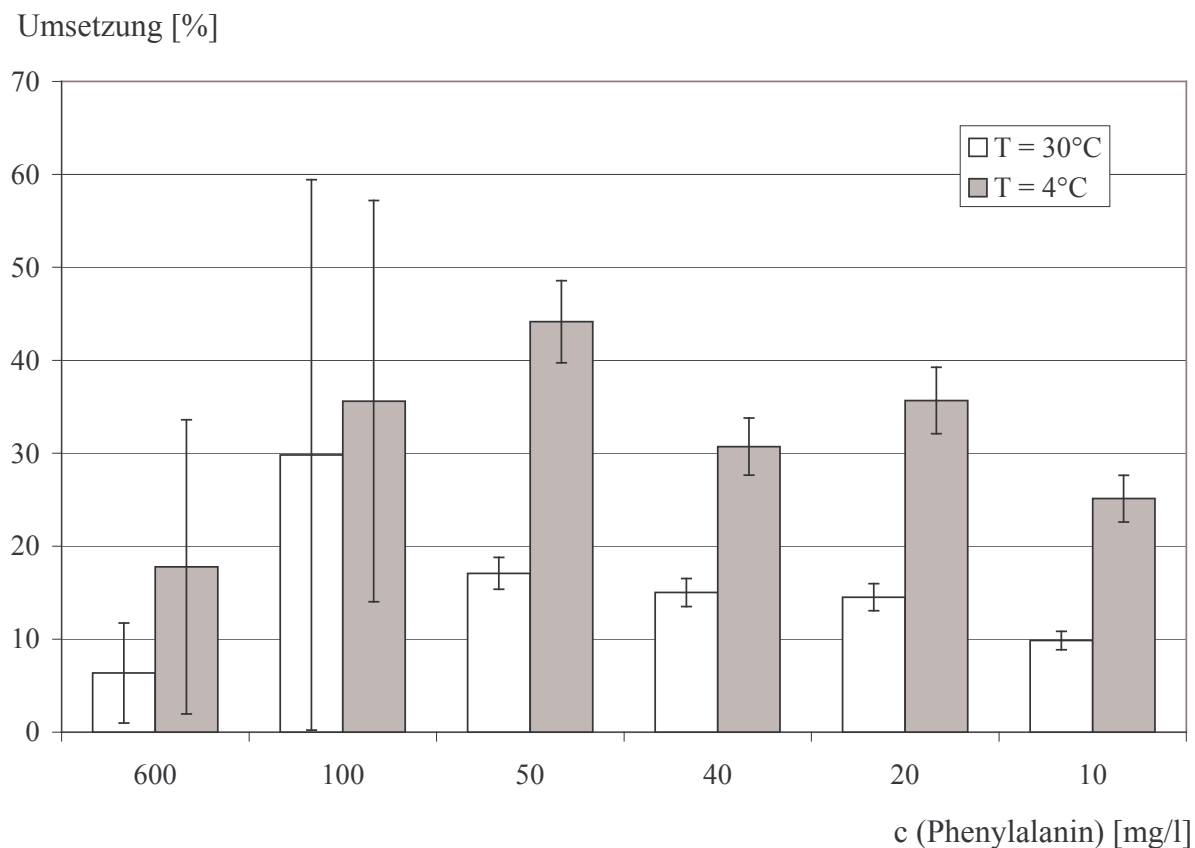


Abb. 17: Temperaturabhängigkeit der Umsetzung von Phenylalanin zu Phenylacetaldehyd (n = 2)

Eine Erhöhung des Verhältnisses zwischen Natriumhypochlorit und Phenylalanin hatte eine Verringerung der prozentualen Umsetzungsrate zur Folge.

### Phenylacetonitril

Phenylacetonitril konnte in allen Proben quantifiziert werden. Bei Zugabe von Natriumhypochlorit in einer Konzentration von 14,6 g/l und einer Reaktionstemperatur von 4°C betrugen die Umsetzungen von Phenylalanin zu Phenylacetonitril zwischen 18,6% und 39,7%. Bei einer Reaktionstemperatur von 30°C lagen die Umsetzungen zwischen 15,8% und 42,6%. Bei einer Konzentration an Natriumhypochlorit von 1,46 g/l betrugen die Umsetzungen zwischen 18,2% und 39,9% (T = 4°C) bzw. 31,1% und 46,4% (T = 30°C). Bei hohen Konzentrationen an Natriumhypochlorit waren bei einer Reaktionstemperatur von 30°C höhere Umsetzungen zu Phenylacetonitril feststellbar als bei 4°C. Bei einem 1,5-fachen molaren Überschuss an Natriumhypochlorit lagen die Umsetzungen zu Phenylacetonitril zwischen 6,0% und 47,9% (T = 30°C) bzw. 15,1% und 40,1% (T = 4%). Im Gegensatz zur

Bildung von Phenylacetaldehyd war die Umsetzung zu Phenylacetonitril einer geringeren Abhängigkeit von den Reaktionsbedingungen unterworfen. Die Abhängigkeit von der Natriumhypochlorit-Konzentration und der Reaktionstemperatur war weniger stark ausgeprägt als die Umsetzung von Phenylalanin zu Phenylacetaldehyd. In Abb. 18 wird die Umsetzung von Phenylalanin zu Phenylacetonitril nach Behandlung mit verschiedenen Natriumhypochlorit-Konzentrationen bei 4°C dargestellt.

Umsetzung [%]

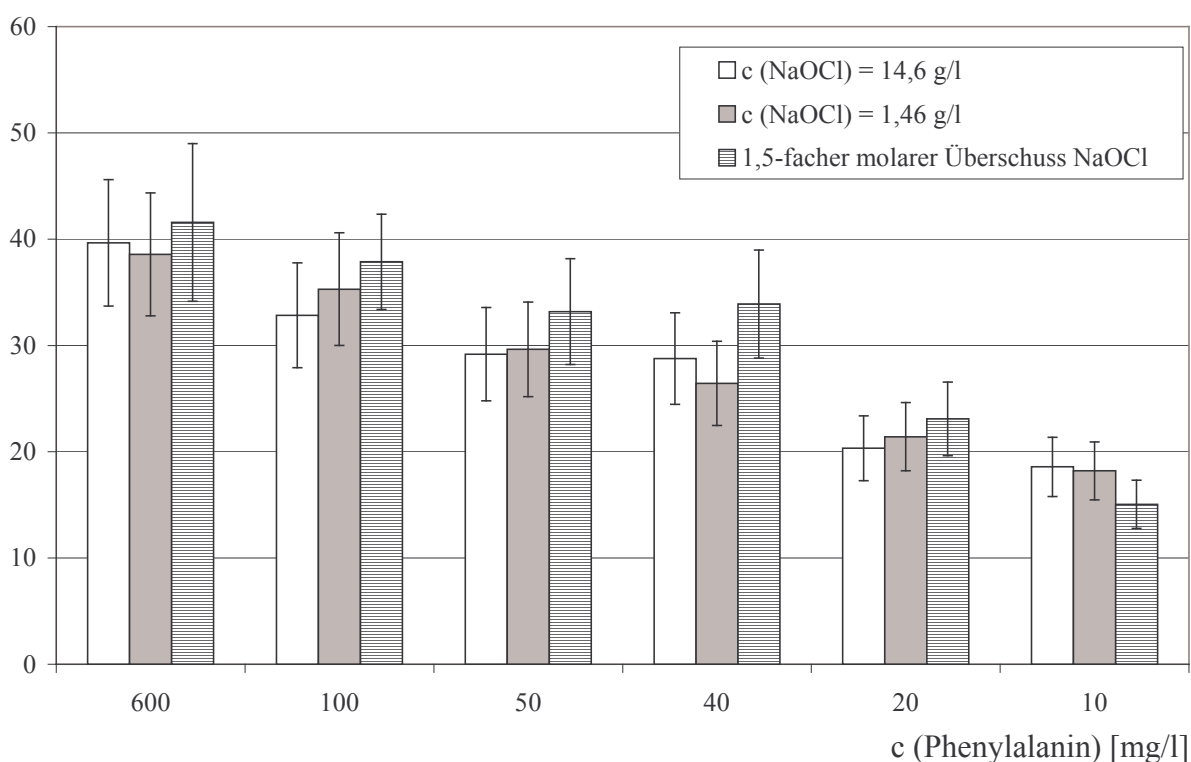


Abb. 18: Umsetzungen von Phenylalanin zu Phenylacetonitril bei verschiedenen Konzentrationen an Natriumhypochlorit und Phenylalanin (n = 2)

Der Gehalt an nicht umgesetztem Phenylalanin lag in allen untersuchten Referenzlösungen unterhalb der Bestimmungsgrenze von 0,5 mg/l.

### Gesamtumsetzung

Die Gesamtumsetzungen von Phenylalanin zu Phenylacetonitril und Phenylacetaldehyd lagen zwischen 18,6% und 86,3% ( $T = 4^{\circ}\text{C}$ ) bzw. 15,8% und 88,4% ( $T = 30^{\circ}\text{C}$ ). Die höchsten Gesamtumsetzungen wurden (unabhängig von der Reaktionstemperatur) bei 1,5-fachem molaren Überschuss an Natriumhypochlorit verzeichnet. Je höher die Konzentration an Natriumhypochlorit in den Lösungen war, desto geringer waren die Gesamtausbeuten an

Phenylacetaldehyd und Phenylacetonitril. Bei Behandlung der Lösungen mit 14,6 g/l Natriumhypochlorit ( $T = 30^{\circ}\text{C}$ ) konnte kein Phenylacetaldehyd nachgewiesen werden. Als Produkt der Chlorierung bildete sich ausschließlich Phenylacetonitril. Ein Nachweis von nicht umgesetztem Phenylalanin war nicht möglich. Es ist davon auszugehen, dass unter diesen Bedingungen nach Bildung von intermediärem N-Chlorphenylalanin aufgrund des großen Überschusses an Natriumhypochlorit eine weitere Chlorierung zu N,N-Dichlorphenylalanin stattfindet. Nach anschließender Decarboxylierung und Dechlorierung entsteht als dominierende Verbindung Phenylacetonitril. Es muss davon ausgegangen werden, dass sich unter diesen Bedingungen als weitere Nebenprodukte der Desinfektion aufgrund stärkerer Oxidation und Chlorierung des Phenylalanins insbesondere Chloroform, Dichloressigsäure und Trichloracetaldehyd, aber auch anorganische Stickstoff-Verbindungen bilden. Bei einer Reaktionstemperatur von  $4^{\circ}\text{C}$  konnte Phenylacetaldehyd nachgewiesen werden. Aus einer Erniedrigung der Temperatur folgte in geringem Umfang eine direkte Decarboxylierung und -chlorierung des intermediären N-Chlorphenylalanins, und daraus resultierend eine Bildung von Phenylacetaldehyd. Die oxidierende Wirkung des Natriumhypochlorits war tendenziell kleiner als bei  $30^{\circ}\text{C}$ , was sich in einer Erhöhung der Gesamtumsetzung äußert. Wurde die Konzentration des Natriumhypochlorits verringert, so stiegen die Gesamtumsetzungen des Phenylalanins. Die stärkere Bildung von intermediärem N-Chlorphenylalanin im Verhältnis zu N,N-Dichlorphenylalanin konnte durch die Bildung von Phenylacetaldehyd in höheren Konzentrationen bestätigt werden. Bei einer Reaktionstemperatur von  $4^{\circ}\text{C}$  dominierte Phenylacetaldehyd im Vergleich zu Phenylacetonitril, während bei  $30^{\circ}\text{C}$  die Bildung von Phenylacetonitril überwog. Dieses Ergebnis kann durch die temperaturabhängige Wirkung des Überschusses an Natriumhypochlorit erklärt werden, der bei erhöhter Temperatur zu einer Weiterreaktion des N,N-Dichlorphenylalanins aufgrund des höheren Chlorierungsgrades zu kleineren Molekülen führt. In Abb. 19 ist Umsetzung von Phenylalanin zu Phenylacetaldehyd und Phenylacetonitril in Abhängigkeit von der Natriumhypochlorit-Konzentration bei  $4^{\circ}\text{C}$  dargestellt.

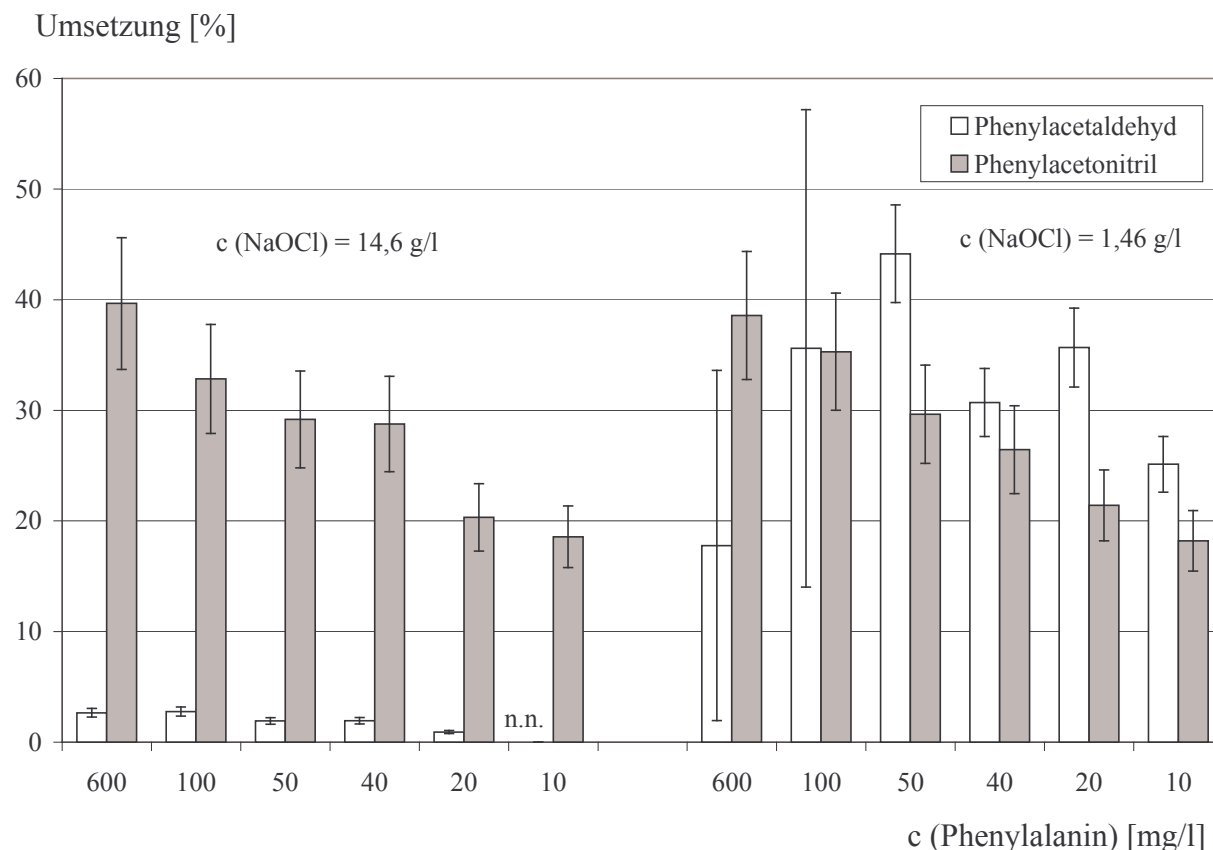


Abb. 19: Verhältnis zwischen Phenylacetonitril und Phenylacetaldehyd bei der Umsetzung von Phenylalanin / Abhängigkeit von der Konzentration an Natriumhypochlorit (n = 2)

Die höchsten Gesamtumsetzungen von Phenylalanin fanden bei einem 1,5-fachem molaren Überschuss an Natriumhypochlorit statt. Aus der Herabsetzung der Konzentration an Natriumhypochlorit resultierte im Vergleich zu den oben angeführten Versuchen ein geringerer Abbau von Phenylalanin. Die Dominanz von Phenylacetaldehyd im Vergleich zu Phenylacetonitril bei einer Reaktionstemperatur von 30°C erklärt sich durch stärkere Reaktion des intermediären N-Chlorphenylalanins zur Carbonylverbindung. Bei 4°C findet diese Reaktion nicht in entsprechendem Umfang statt, was eine Umkehrung des Verhältnisses zwischen den beiden Produkten zur Folge hat.

Die Verbindung Phenylacetaldehyd ist neben  $\beta$ -Damascenon als Aromakomponente in Honig bekannt und wurde als Aromastoff in Lindenblüten identifiziert (Bonnländer 2002). In verschiedenen Weinen wurden Phenylacetaldehyd-Gehalte zwischen 4,63  $\mu\text{g/l}$  und 91,2  $\mu\text{g/l}$  bestimmt (Culleré et al. 2007). Während das Auftreten von Phenylacetaldehyd bei oxidativen Alterungsprozessen in Wein bekannt ist, wurde über den Einfluss von Desinfektionsprozessen bisher nicht berichtet. Die Bildung von Phenylacetaldehyd und anderen Aldehyden bei Einsatz von Natriumhypochlorit stellt eine potentielle Quelle für Fehlgerüche in Wein dar.

## Proben

Es wurden Modell-Lösungen entsprechend den bei der Desinfektion und Reinigung bei der Weinbereitung vorkommenden Konzentrationen aus Rotwein, Weißwein und Hefetrub angesetzt. In den behandelten Proben bildete sich Phenylacetonitril, während eine Umsetzung zu Phenylacetaldehyd nicht stattfand. Dieses Ergebnis kann durch den hohen Überschuss an Natriumhypochlorit und geringe Phenylalanin-Konzentrationen erklärt werden und entspricht den Ergebnissen in den Modell-Lösungen mit Phenylalanin. Die Konzentrationen des Phenylacetonitrils lagen bei Behandlung mit 14,6 g/l Natriumhypochlorit zwischen 0,49 mg/l (RW 20%) und 0,69 mg/l (WW 20%). Die höchsten Konzentrationen an Phenylacetonitril konnten in einer 8%-igen Hefetrub-Lösung nachgewiesen werden (7,28 mg/l). Bei Behandlung der Modell-Lösungen mit Natriumhypochlorit in einer Konzentration von 1,46 mg/l ( $T = 30^{\circ}\text{C}$ ) konnten höhere Phenylacetonitril-Gehalte gemessen werden. Dieses Ergebnis bestätigt die Untersuchungen der Modell-Lösungen von Phenylalanin, in denen ebenfalls höhere Umsetzungen zu Phenylacetonitril bei Verminderung des Überschusses an Natriumhypochlorit festgestellt wurden. So betrugen die Konzentrationen an Phenylacetonitril zwischen 0,69 mg/l (RW 20%) und 1,34 mg/l (WW 20%), die höchsten Gehalte bis zu 10,91 mg/l wurden in Hefetrub-Lösungen bestimmt (8%-ige Hefetrub-Lösung,  $T = 30^{\circ}\text{C}$ ).

Die Untersuchungen zum Verhalten von Aminosäuren bei Desinfektion mit Natriumhypochlorit in der Weinbereitung zeigen, dass der wesentliche Anteil der Stickstoff-Verbindungen nicht zu AOX, sondern zu unhalogenierten Verbindungen umgesetzt wird. Über den Einfluss dieser geruchsintensiven Substanzen auf das Aroma bei Kontakt mit dem Lebensmittel Wein wurde bisher nicht berichtet. Aufgrund der geringen Geruchsschwellenwerte der Aldehyde (Grenzwert für Phenylacetaldehyd nach Culleré et al. (2007)  $1,0 \mu\text{g/l}$ ) ist durch die Wirkung von Natriumhypochlorit bei direktem Kontakt mit dem Wein eine Bildung von aromarelevanten Verbindungen nicht auszuschließen und sollte vermieden werden. Eventuell entstehende Chloramine werden aufgrund der Zugabe von Natriumsulfit nicht als AOX erfasst.



### **3.4 Zusammensetzung von AOX**

#### **3.4.1 Untersuchungen zum Adsorptionsverhalten**

Um die Erfassung der identifizierten Verbindungen als AOX bewerten zu können, mussten die Wiederfindungen der Substanzen mit dem Summenparameter AOX bestimmt werden. Da die einzelnen Nebenprodukte der Desinfektion verschiedene Adsorptionseigenschaften besitzen und bei der Adsorption an Aktivkohle mit unhalogenierten Kohlenwasserstoffen konkurrieren, ist davon auszugehen, dass die Verbindungen nicht vollständig als AOX erfasst werden und eine direkte Umrechnung von einzelnen Substanzen auf AOX nicht möglich ist. Bei der Bestimmung von AOX in Ringversuchen und Laborvergleichsuntersuchungen treten hohe Vergleichsvariationskoeffizienten auf (Schulze-Rettmer 2001). Insbesondere bei der Untersuchung halogener Essigsäuren wurden Probleme bei der Erfassung als AOX berichtet (Laschka 2000). Bei der Bestimmung von AOX in wässrigen Lösungen handelt es sich im Wesentlichen um das Resultat einer Gleichgewichtseinstellung zwischen den in der flüssigen Phase gelösten und den an der Aktivkohle adsorbierten Halogenverbindungen (ATV-Fachausschuss 2002). Da bei den Modell-Lösungen und Proben aus dem Weinbau viele unhalogenierte Substanzen vorhanden sind, die Einfluss auf diese Gleichgewichtseinstellung haben und es sich bei den dominierenden halogenierten Nebenprodukten um leichtflüchtige (Chloroform) und hydrophile (Dichloressigsäure) Verbindungen handelt, ist eine direkte Korrelation von Einzelverbindungen und AOX schwierig und nicht so exakt zu gewährleisten wie die Bestimmung einzelner Substanzen. Für die Abschätzung des Gefährdungspotentials von AOX beim Einleiten in Gewässer ist eine substanzspezifische Analytik dem Summenparameter AOX vorzuziehen.

#### **Chloroform**

Zur Bestimmung der Wiederfindung von Chloroform in den Proben wurden Chloroform-Lösungen bis zu 263,7 µg/l Cl<sup>-</sup> angesetzt und die Wiederfindung als AOX entsprechend Kap. 6.1.1 ermittelt. Die Überprüfung des Gesamtverfahrens erfolgte mit p-Chlorphenol, bei dem von einer vollständigen Adsorption an Aktivkohle ausgegangen wird. In Abb. 20 ist die Wiederfindung von Chloroform als AOX und in Prozent dargestellt.

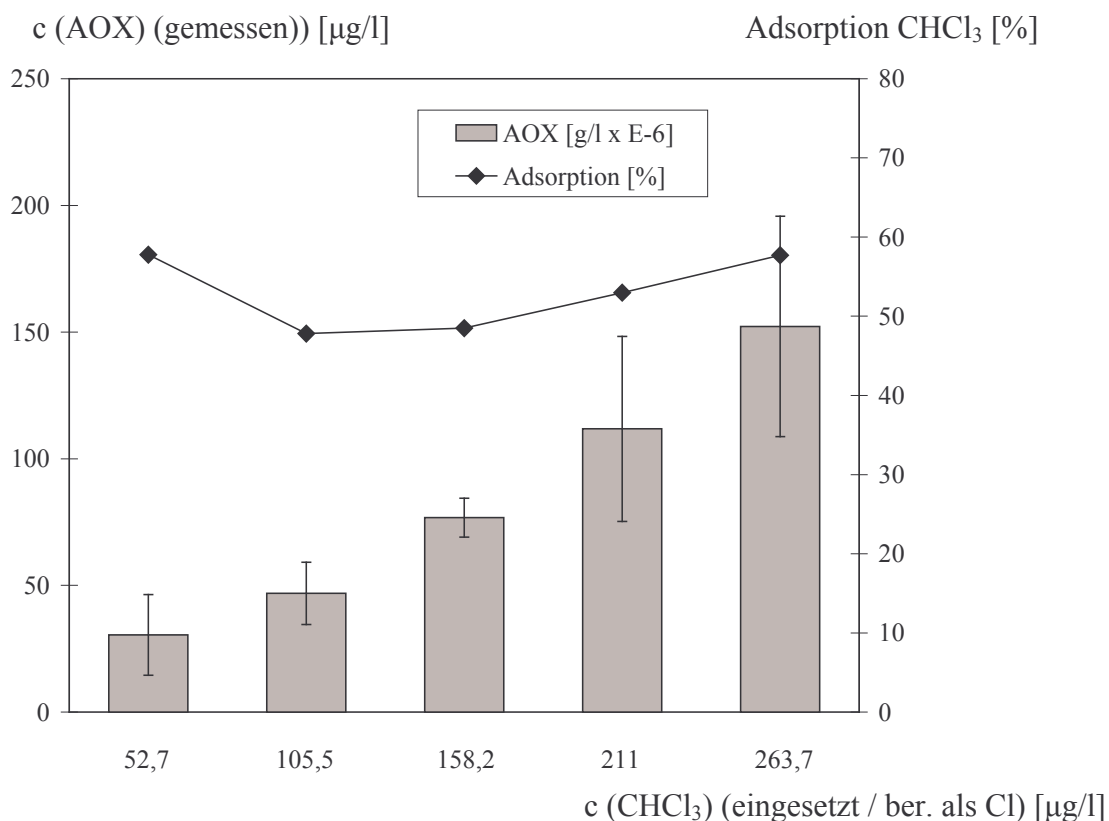


Abb. 20: Erfassung von Chloroform als AOX (n = 3)

Aus den Messungen der AOX-Gehalte dieser Standard-Lösungen ergab sich für Chloroform eine durchschnittliche Wiederfindungsrate von 52,3%.

### Dichloressigsäure

Es wurden Standard-Lösungen unter Verwendung von Dichloressigsäure in einem Messbereich bis 252,6 μg/l Cl<sup>-</sup> hergestellt und die Wiederfindungsrate durch Vergleich der gemessenen AOX und der berechneten Chlor-Gehalte bestimmt.

Aus den Messungen der AOX-Gehalte der Standard-Lösungen ergab sich für Dichloressigsäure eine durchschnittliche Adsorptionsrate von lediglich 26,4% (Tab. 21).

Tab. 21: Erfassung von Dichloressigsäure als AOX

c (Dichloressigsäure) [μg/l]	c (Cl <sup>-</sup> ) [μg/l] <sup>1</sup>	AOX (Cl <sup>-</sup> ) [μg/l]	Adsorption [%]
91,9	50,5	21,4	37,8
183,7	101,0	23,7	23,5
275,6	151,6	35,5	23,4
367,5	202,1	45,4	22,5
459,4	252,6	62,3	24,7

Da es sich bei der Verbindung Dichloressigsäure um eine hydrophile Verbindung handelt, ist sie mit dem Summenparameter AOX schlecht erfassbar (Schulze-Rettmer 2001). Die schlechte Erfassung stellt eine Problematik bei der Analytik von AOX dar, die zwar schon seit längerem bekannt ist (Wiederfindung von Chloressigsäure als AOX ca. 10%: Koppe 1984), jedoch in der Diskussion über die Aussagekraft dieses Parameters oft vernachlässigt wird.

### Trichloracetaldehyd

Trichloracetaldehyd ist eine Verbindung mit lipophileren Eigenschaften als Dichloressigsäure und hat eine geringere Flüchtigkeit als Chloroform. Daraus folgt, dass Trichloracetaldehyd die höchste Adsorptionsrate der untersuchten Verbindungen besitzt. Zur Bestimmung der Wiederfindung von Chloroform in den Proben wurden Trichloracetaldehyd-Lösungen in Konzentrationen bis zu 274,2 µg/l Cl<sup>-</sup> angesetzt und die Wiederfindung als AOX bestimmt (Tab. 22).

Tab. 22: Erfassung von Trichloracetaldehyd als AOX

c (Trichloracetaldehyd) [µg/l]	c (Cl <sup>-</sup> ) [µg/l] <sup>1</sup>	AOX (Cl <sup>-</sup> ) [µg/l]	Adsorption [%]
76,0	54,8	49,8	90,8
152,0	109,7	96,2	87,7
228	164,5	136,3	82,9
304	219,4	178,4	81,3
380	274,2	242,3	88,4

Die Wiederfindungsrate von Trichloracetaldehyd als AOX betrug durchschnittlich 86,2%.

### 3.4.2 Anteile einzelner Nebenprodukte der Desinfektion an AOX

Die während der Weinbereitung entstehenden AOX setzen sich im Wesentlichen aus den Verbindungen Chloroform, Dichloressigsäure und Trichloracetaldehyd zusammen. Es handelt sich um die Verbindungen, die auch bei der Desinfektion von Trinkwasser die wesentlichen Nebenprodukte darstellen (Williams et al. 1997, Simmons et al. 2004). Für die Feststellung der Anteile einzelner Verbindungen an AOX wurden die Konzentrationen der Desinfektions-Nebenprodukte in den verschiedenen Modell-Lösungen mit dem Faktor der Adsorption als AOX multipliziert und auf den Cl<sup>-</sup>-Gehalt umgerechnet. Bei Behandlung der Proben mit Natriumhypochlorit in einer Konzentration von 1,46 g/l und einer Reaktionstemperatur von

4°C betrugen die Anteile von **Chloroform** an gebildetem AOX zwischen 2,7% und 25%, bei einer Natriumhypochlorit-Konzentration von 14,6 g/l zwischen 0,9% und 41,7%. Wurde eine Reaktionstemperatur von 30°C gewählt, so lagen die Chloroform-Anteile zwischen 0,7% und 13,7% bzw. 1,5% und 31,4%. Bei 30°C lagen die Anteile an gebildetem Chloroform an AOX bei höherer Natriumhypochlorit-Konzentration über den Werten bei niedrigerer Konzentration an Natriumhypochlorit (Abb. 21).

Chloroform [%]

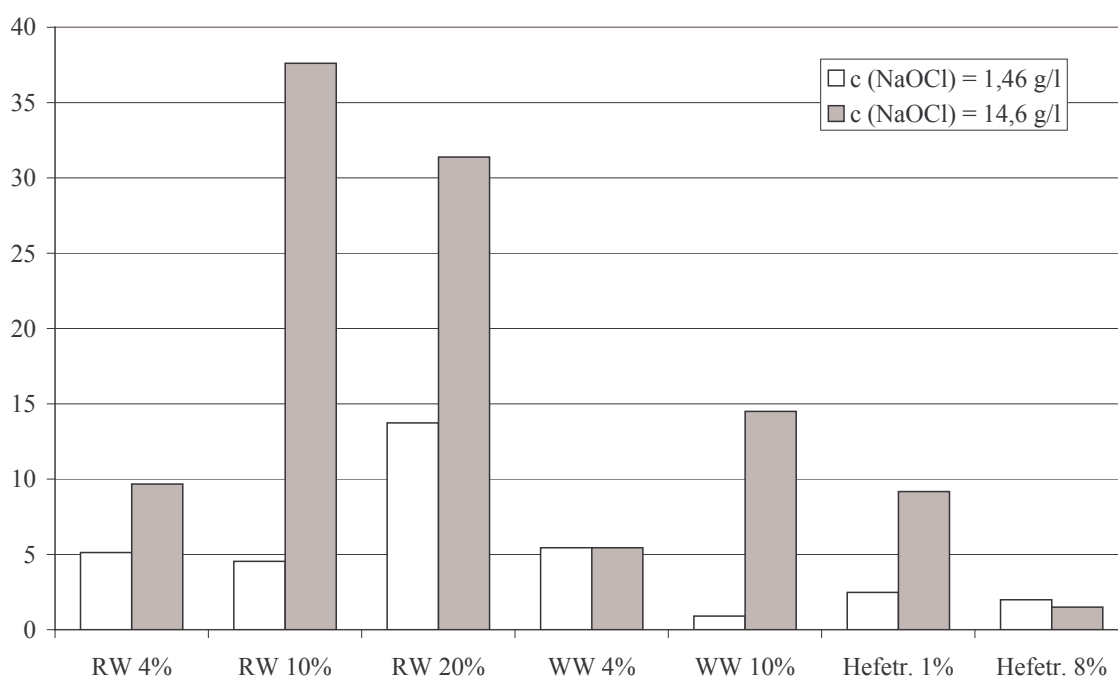


Abb. 21: Chloroform-Anteil in % an AOX in Abhängigkeit von der Natriumhypochlorit-Konzentration in Rotwein (RW)-, Weißwein (WW)- und Hefetrub-Lösungen

In den Modell-Lösungen mit Hefetrub lagen die Chloroform-Gehalte bei 1%-igen Lösungen bei allen Reaktionsbedingungen über denen der 8%-igen Lösungen. Aus einer Erhöhung des Anteils an Hefetrub folgte eine Verringerung des Natriumhypochlorit-Überschusses, die zu einer stärkeren Bildung der gesamten AOX im Vergleich zur Bildung von Chloroform führte. Eine Erhöhung der Natriumhypochlorit-Konzentration im Vergleich zu den Konzentrationen an organischem Substrat führte zu erhöhten Anteilen des Chloroforms an AOX. Dieses resultiert aus einer stärkeren Zerstörung der einzelnen Moleküle zu C<sub>1</sub>-Verbindungen im Vergleich zur Bildung der gesamten AOX. Bei einer Reaktionstemperatur von 4°C waren die prozentualen Gehalte an Chloroform höher als bei 30°C.

Die Anteile von **Dichloressigsäure** an AOX lagen bei einer Reaktionstemperatur von 4°C zwischen 5,0% und 40,5% bzw. 19,5% und 43,6% bei Behandlung der Proben mit Natriumhypochlorit in Konzentrationen von 1,46 g/l bzw. 14,6 g/l. Bei einer Reaktionstemperatur von 30°C betrugen die Dichloressigsäure-Anteile zwischen 8,7% und 73,6% bzw. 8,1% und 69,8%. Bei Vergleich des Einsatzes von Natriumhypochlorit waren die Anteile von Dichloressigsäure an AOX bei höherer Konzentration bis zu 6,6-fach erhöht. Die Abhängigkeit von der Natriumhypochlorit-Konzentration war jedoch weniger stark ausgeprägt als beim Parameter Chloroform, die Zerstörung und Halogenierung größerer Moleküle durch Natriumhypochlorit zur Endstufe des C<sub>2</sub>-Moleküls Dichloressigsäure ist weniger stark ausgeprägt als die Reaktion zu C<sub>1</sub>-Molekülen. Die Dichloressigsäure-Gehalte an AOX in den Hefetrub-Lösungen lagen bei 1%-igen Lösungen unabhängig von den Reaktionsbedingungen über den Gehalten der 8%-igen Lösungen.

Die Anteile von **Trichloracetaldehyd** an AOX betrugen bei einer Reaktionstemperatur von 4°C zwischen 0,1% und 37,8% bzw. 2,1% und 34,8% bei Natriumhypochlorit-Konzentrationen von 1,46 g/l bzw. 14,6 g/l. Bei der Reaktionstemperatur 30°C lagen die Anteile zwischen 0,3% und 11,1% bzw. 10,6% und 64,7%. Eine Erhöhung der Natriumhypochlorit-Konzentration hatte, wie bei Chloroform und Dichloressigsäure, steigende Anteile von Trichloracetaldehyd an AOX zur Folge.

Trichloracetaldehyd [%]

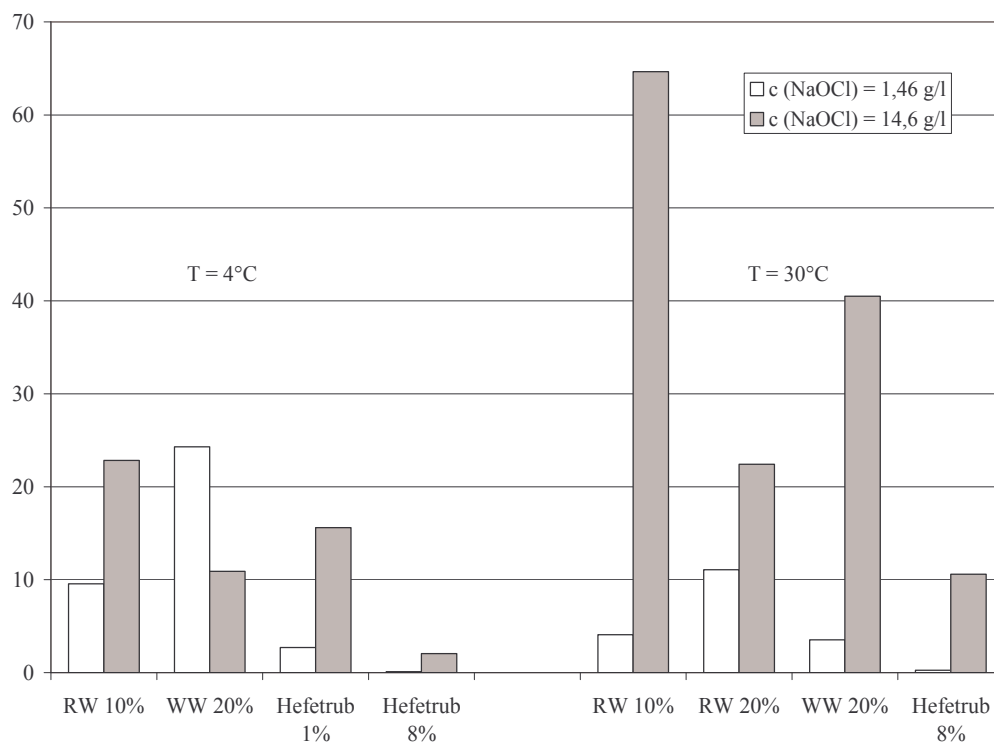
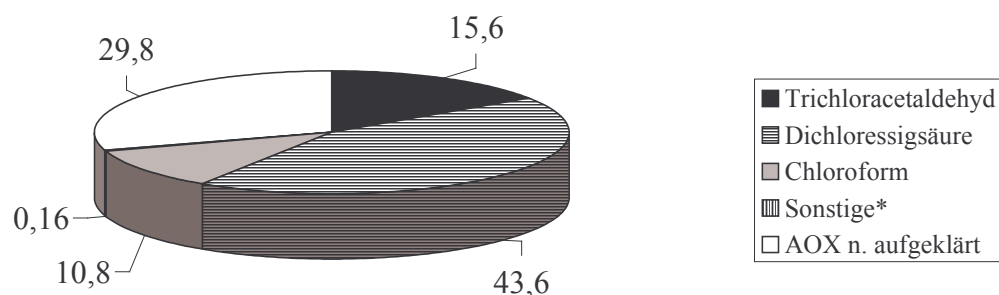


Abb. 22: Anteile von Trichloracetaldehyd an AOX (RW: Rotwein; WW: Weißwein)

Unabhängig von der Reaktionstemperatur lagen bei einer Natriumhypochlorit-Konzentration von 14,6 g/l die durchschnittlichen Trichloracetaldehyd-Anteile an AOX über den bei 1,46 g/l festgestellten Werten. Aus einer Erhöhung der organischen Komponente in den Modell-Lösungen mit Hefetrub folgte ein geringerer Anteil von Trichloracetaldehyd an AOX zwischen 7,6% und 24,5%. Bei 30°C waren die Anteile von Trichloracetaldehyd an AOX größer als bei 4°C.

### Gesamtzusammensetzung der AOX

In Abb. 23 ist die Zusammensetzung der AOX einer 1%-igen Hefetrub-Lösung dargestellt, die mit Natriumhypochlorit in einer Konzentration von 14,6 g/l bei einer Temperatur von 4°C behandelt wurde. Unter diesen Bedingungen besaß Dichloressigsäure mit 43,6% den größten Anteil an AOX, dann folgten Trichloracetaldehyd (15,6%) und Chloroform (10,8%). Tetrachlorkohlenstoff und chlorierte Phenylelessigsäuren hatten zusammen einen Anteil von 0,16%, Tetrachlorethen war nachweisbar. 29,8% der AOX verursachenden Verbindungen wurden nicht identifiziert.



\* Sonstige: Tetrachlorkohlenstoff, 2-Chlorphenylelessigsäure, 2,4-Dichlorphenylelessigsäure, Tetrachlorethen

Abb. 23: Zusammensetzung der AOX einer 1%-igen Hefetrub-Lösung ( $c(\text{NaOCl}) = 14,6 \text{ g/l}$ )

Bei Verringerung der Natriumhypochlorit-Konzentration war ein geringerer Anteil niedermolekularer Verbindungen an AOX zu erwarten. Der Anteil nicht aufgeklärter Verbindungen erhöhte sich, da ein größerer Teil der Verbindungen einer geringeren Oxidation unterworfen war. Bei dem in Abb. 24 angeführten Beispiel einer 1%-igen Hefetrub-Lösung, die mit Natriumhypochlorit in einer Konzentration von 1,46 g/l behandelt wurde, betrug dieser Anteil 54,9%. Der Anteil komplexer Moleküle war höher als in vergleichbaren synthetischen Abwässern unter Verwendung von Rotwein oder Weißwein.

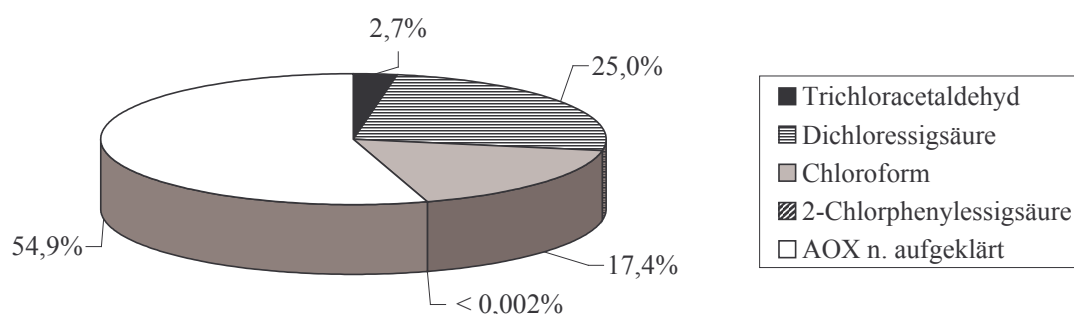


Abb. 24: Zusammensetzung der AOX einer 1%-igen Hefetrub-Lösung ( $c(\text{NaOCl}) = 1,46 \text{ g/l}$ )

Der Anteil einzelner Substanzen war von der Konzentration der organischen Komponente abhängig. Bei Erhöhung des Anteils an organischer Komponente nahm der Anteil nicht identifizierter Verbindungen in Hefetrub-Lösungen bis auf 92,1% zu.

Dominierende AOX-Verbindung in 20%-igen Rotwein-Lösungen, die bei 4°C mit Natriumhypochlorit behandelt wurden, war Dichloressigsäure mit einem Anteil von 51,6% bzw. 56,5% ( $c(\text{NaOCl}) = 1,46 \text{ g/l}$  bzw. 14,6 g/l). Die Anteile von Trichloroacetaldehyd und Chloroform betrugen 11,1% und 13,7% bzw. 18,1% und 25,4% bei Natriumhypochlorit-Konzentrationen von 1,46 g/l bzw. 14,6 g/l. Die oxidierende Wirkung des Natriumhypochlorits in einer Konzentration von 14,6 g/l und einer Reaktionstemperatur von 30°C war so stark, dass sich ausschließlich Chloroform, Dichloressigsäure und Trichloroacetaldehyd bildeten. Im Gegensatz dazu betrug bei einer Natriumhypochlorit-Konzentration von 1,46 g/l der Anteil an nicht identifiziertem AOX 23%. Des Weiteren waren 0,7% 1,1,1-Trichlorpropanon nachweisbar. Die Anteile einzelner halogenierter Komponenten an AOX in Rotwein-Lösungen waren von der Konzentration der organischen Stoffe abhängig. Bei einer hohen Natriumhypochlorit-Konzentration von 14,6 g/l bestanden die AOX (4%-ige Modell-Lösungen bei 4°C) aus Trichloroacetaldehyd (78,8%), Dichloressigsäure (16,8%), Chloroform (4,4%), 1,1,1-Trichlorpropanon (< 0,01%), Tetrachlorethen (nachweisbar) und 2-Chlorphenylelessigsäure (< 0,01%). Wurde die Konzentration des Rotweins auf 20% erhöht, so konnten 28,1% des AOX aufgrund einer geringeren Zerstörung der Ausgangsverbindungen im Vergleich zur 4%-igen Lösung nicht identifiziert werden (Abb. 25).

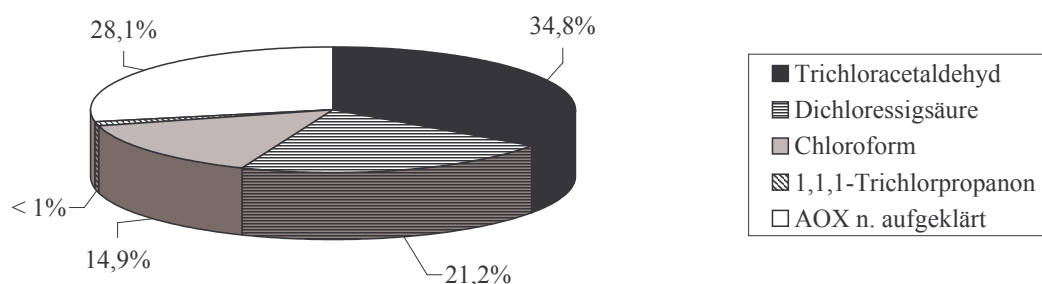


Abb. 25: Zusammensetzung der AOX einer 20%-igen Rotwein-Lösung ( $c(\text{NaOCl}) = 14,6 \text{ g/l}$ )

Der bei 4°C und einer Natriumhypochlorit-Konzentration von 14,6 g/l nicht identifizierte AOX-Anteil von 28,1% im Gegensatz zur Zusammensetzung des AOX aus ausschließlich niedermolekularen Verbindungen ( $\text{C}_1\text{-C}_3$ ) bei 30°C dokumentiert die stärker oxidierende Wirkung des Natriumhypochlorits bei höherer Temperatur.

Bei Verwendung von Weißwein-Lösungen waren die Hauptkomponenten des AOX Chloroform, Dichloressigsäure und Trichloroacetaldehyd. In Abb. 26 ist die Zusammensetzung des AOX einer 4%-igen Weißwein-Lösung wiedergegeben, die bei 4°C mit Natriumhypochlorit in einer Konzentration von 1,46 g/l behandelt wurde. In diesen Modell-Lösungen hatte Dichloressigsäure den größten Anteil an AOX, der Anteil an nicht identifizierten AOX betrug unter diesen Bedingungen 18,2%.

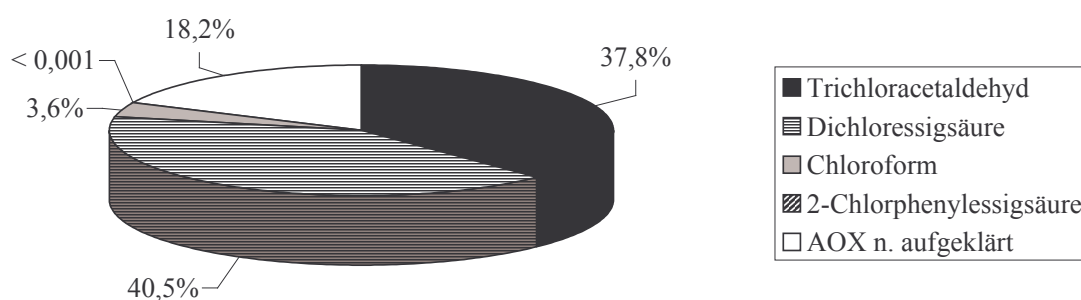


Abb. 26: Prozentuale Zusammensetzung der AOX einer 4%-igen Weißwein-Lösung

Die Anteile von Chloroform, Dichloressigsäure und Trichloroacetaldehyd an AOX waren teilweise erheblich höher, als bei vergleichbaren Untersuchungen in der Papierindustrie festgestellt wurde. Der Anteil von leichtflüchtigen halogenierten Verbindungen und



halogenierten Essigsäuren an AOX in der Papierindustrie lag nach Juuti et al. (1996) zwischen 6% und 45%. Allerdings sind in diesem Zusammenhang die unterschiedlichen Bedingungen der Probenahme und -entstehung zu berücksichtigen. So wurden in oben genanntem Beispiel aus der Papierindustrie die Proben aus dem Ablauf der Kläranlage genommen, woraus eine erhebliche Verdünnung des AOX und damit ein erhöhter Anteil nicht anthropogener Verbindungen (halogenierte Huminsäuren etc.) resultiert. Es ist davon auszugehen, dass aufgrund des Vorhandenseins von höhermolekularen Verbindungen (Lignine etc.) der Anteil oben genannter Verbindungen an AOX bei der Papierbleiche geringer ausfallen muss als bei der Behandlung der Abwasser-Lösungen aus der Weinbereitung, bei der die Anteile hochmolekularer Verbindungen geringer sind.

### **3.5 Untersuchung halogenierter Substanzen während der Weinlese**

#### **3.5.1 Probenahme im Weinbau-Betrieb und in Kläranlagen**

##### **3.5.1.1 Weinbau-Betrieb**

Während der Weinbau-Kampagne fallen ca. 45% des jährlichen Abwassers eines Weinbau-Betriebes an. Die anderen 55% verteilen sich über den Rest des Jahres mit einem täglichen Abwasseraufkommen von ca. 90 l/ha (BSB<sub>5</sub>-Wert 1500 mg O<sub>2</sub>/l). Zur Untersuchung der Entstehung von organischen Halogenverbindungen während der Desinfektion mit Natriumhypochlorit wurden im Jahr 2005 unmittelbar nach Einsatz von Chlorbleichlauge im Rahmen der Bodenreinigung Proben in einem Versuchsbetrieb genommen und die Bildung der in den Modell-Versuchen qualifizierten Verbindungen untersucht. Die Natriumhypochlorit-Konzentration der eingesetzten Chlorbleichlauge lag unter 0,35%, die Temperatur bei 8°C und der pH-Wert des entstehenden Abwassers bei durchschnittlich 7,6. Das eingesetzte Wasser hatte Trinkwasserqualität und wies keine Belastung mit halogenorganischen Verbindungen auf.

##### **3.5.1.2 Kläranlagen**

Ein wesentlicher Faktor zur Bewertung von Nebenprodukten der Desinfektion ist die Elimination in der Kläranlage. Im Zeitraum der Weinlese wurden Zu- und Abläufe der Kläranlagen Neustadt/Weinstraße und Niederkirchen beprobt, um festzustellen, ob und in

welchen Konzentrationen die bei Einsatz von Natriumhypochlorit in der Weinbereitung identifizierten Nebenprodukte die Abwasserreinigungsanlagen erreichen und passieren.

Die im Jahr 2006 beprobten Kläranlagen liegen im Einzugsgebiet des Rheins. Nach den Zahlen der Deutschen Kommission zur Reinhaltung des Rheins lagen die AOX-Emissionen im deutschen Rheingebiet 1992 bei 752 t, der Anteil der industriellen Direkteinleiter lag bei 76% (568 t). Zum Vergleich: die AOX-Emissionen der Chemischen Industrie lagen 1994 bei 340 t. Die punktförmigen AOX-Einleitungen durch kommunale Kläranlagen im Rheineinzugsgebiet lagen 1996 bei 147 t (Böhm et al. 1999). Der Anteil von Abwässern aus dem Weinbau wurde bisher nicht abgeschätzt.

Bei den Kläranlagen Neustadt/Weinstraße und Niederkirchen handelt es sich um mechanisch/biologische Abwasserreinigungsanlagen mit chemischer Reinigungsstufe auf der Grundlage des Belebtschlammverfahrens. Das gereinigte Abwasser fließt in die Vorfluter, an denen täglich die Probenahme der sedimentierten Abläufe stattfand. Die Zuläufe wurden nach Sand- und Fettfang genommen. Das Zu- und Ablauf-Volumen der Kläranlage NW betrug im Zeitraum der Probenahme in Abhängigkeit von den Witterungsverhältnissen zwischen 60.000 m<sup>3</sup> / Woche und 140.000 m<sup>3</sup> / Woche und lag bei durchschnittlich 88.200 m<sup>3</sup> / Woche. Das Zu- und Ablauf-Volumen der Kläranlage Niederkirchen betrug in Abhängigkeit von den Witterungsverhältnissen zwischen 20.000 m<sup>3</sup> / Woche und 30.000 m<sup>3</sup> / Woche. Der pH-Wert der Proben lag durchschnittlich bei 6,9 (Niederkirchen) bzw. 7,1 (Neustadt/Weinstraße). Die Proben wurden sofort aufgearbeitet, auf eine Fixierung wurde verzichtet.

### 3.5.2 Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe und chlorierte Anisole

Zur Untersuchung leichtflüchtiger halogenerter Kohlenwasserstoffe der Proben aus dem Weinbau-Betrieb wurde die „Purge-and-Trap“-Technik entsprechend Kap. 6.2.1.2 angewendet. Auch die Bestimmung von 2,4,6-Trichloranisol erfolgte nach dieser Methode (Kap. 6.2.6), deren höhere Empfindlichkeit im Vergleich zur „Headspace“-Technik einen Vorteil bietet. Die Proben aus der Kläranlage wurden gemäß Kap. 6.2.1.1 untersucht.

In allen Proben konnte **Chloroform** identifiziert werden. Die Konzentrationen an Chloroform in den Proben aus dem Weinbau-Betrieb lagen zwischen 558,3 mg/l und 703,4 mg/l. Die durchschnittliche Chloroform-Konzentration war 633 mg/l. Die höchste Konzentration an Chloroform in den Proben, die außerhalb der Weinlese genommen wurden, betrug 0,009 mg/l. Im Mittel lag der Chloroform-Gehalt in diesen Proben bei 0,008 mg/l. Die Ergebnisse der

Simulierung von Bildungssituationen für Nebenprodukte der Desinfektion bei Einsatz von Natriumhypochlorit, in denen Chloroform die dominierende Verbindung darstellt, konnten bei Anwendung des Wirkstoffes in der Praxis bestätigt werden.

In den Abläufen der Kläranlage Neustadt/Weinstraße wurden Chloroform-Konzentrationen bis zu 5,9 µg/l bestimmt. Die Konzentrationen in den Zuläufen betrugen bis zu 6,9 µg/l. Aus Abb. 27 sind die durchschnittlichen Chloroform-Konzentrationen der Zu- und Abläufe der Kläranlage NW in den ersten drei Oktober-Wochen ersichtlich. Zusätzlich ist das tägliche Abwasseraufkommen der Kläranlage dargestellt. Hieraus ergäbe sich ein durchschnittlicher täglicher Ausstoß an Chloroform bis zu 127,8 g/l. Jedoch ist zu berücksichtigen, dass es sich bei diesen Proben nicht um Tages-Mischproben handelt und daher eine Verrechnung der Chloroform-Konzentrationen mit dem Wasservolumen nicht ganz exakt ist. Die leicht erhöhten Konzentrationen an Chloroform in einigen Abläufen sind ebenfalls auf die Art der Probe zurückzuführen. Es wurden auch Tages-Mischproben der Zuläufe der Kläranlage NW untersucht. In diesen Proben betrugen die durchschnittlichen Chloroform-Konzentrationen 2,8 µg/l und 2,9 µg/l, die Tagesbelastung betrug entsprechend 26,2 g/l bzw. 28,4 g/l Chloroform.

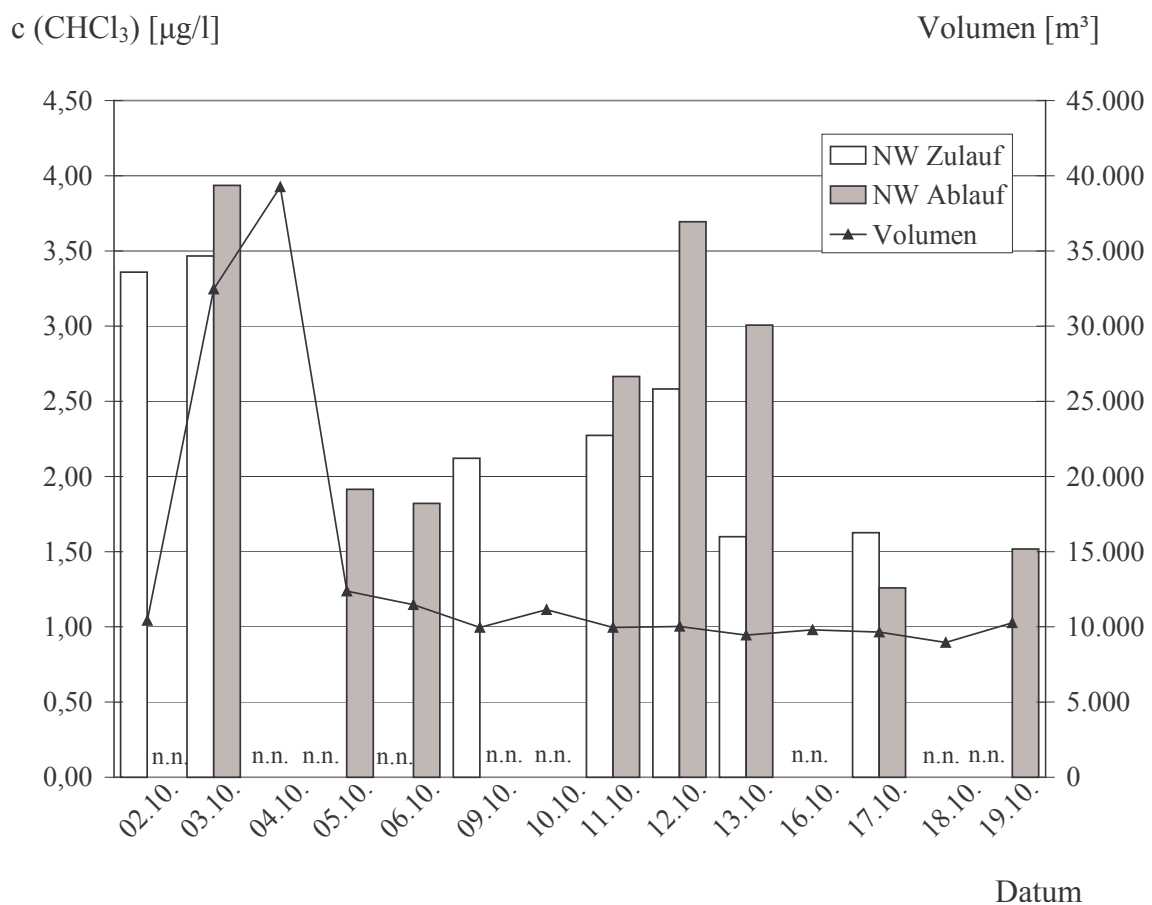


Abb. 27: Chloroform-Konzentrationen in Zu- und Abläufen der Kläranlage Neustadt/Weinstraße

Die Konzentrationen an Chloroform in den Abläufen der Kläranlage Niederkirchen betrugen im Zeitraum der Weinlese bis zu 7,2 µg/l. Eine leichte Erhöhung der Konzentrationen an Chloroform war in der ersten Oktober-Woche, in der aufgrund der Witterungsverhältnisse in 2006 ein großer Teil der Weinlese stattfand, zu registrieren. In dieser Zeit wurden Chloroform-Gehalte zwischen 3,7 µg/l und 7,1 µg/l gemessen. Außerhalb der Weinlese lagen die Chloroform-Gehalte in einem Konzentrationsbereich, der für kommunale Kläranlagen typisch ist (Schröder und Schmidt 2003: 0,4 µg/l – 1,0 µg/l). Diese Belastung erklärt sich durch punktförmige Emissionen von Haushalten, Krankenhäusern usw. Der Einfluss des Weinbaus auf die Chloroform-Gehalte außerhalb der Weinlese, z.B. durch Pestizide wie den Wirkstoff Folpet, aus dem sich Chloroform bilden kann, wurde nicht abgeschätzt. In Abb. 28 sind die durchschnittlichen Chloroform-Konzentrationen im Ablauf der Kläranlage Niederkirchen dargestellt. Von der EU wird Chloroform in einer Liste der 33 „prioritären Stoffe“ geführt, deren Einleitung und Emission in die Gewässer in den nächsten 20 Jahren (Stand: November 2001) vollständig eingestellt werden soll (vgl. Anhang X Wasserrahmenrichtlinie)<sup>8</sup>. Die in dieser Richtlinie festgelegte Qualitätsnorm von 12 µg/l wurde in allen Proben eingehalten. Die relativ niedrigen Konzentrationen an Chloroform sind auf eine starke Verdünnung der ursprünglich bei Einsatz von Chlorbleichlauge hohen Chloroform-Gehalte zurückzuführen. Der Einsatz von chlorhaltigen Desinfektionsmitteln erfährt aufgrund alternativer Verfahren (z.B. Verwendung von Peroxyessigsäure) einen rückläufigen Trend, was sich an erfreulich geringen Chloroform-Gehalten ablesen lässt. Dieses kann auch aus den Produktpaletten der führenden Hersteller von Desinfektionsmitteln abgelesen werden, die zunehmend auf die Herstellung chlorhaltiger Mittel verzichten. Somit ist die Verbesserung der Gewässerqualität in Rheinland-Pfalz, die sich z.B. in einer Änderung der chemischen Gewässergüte für Chloroform von der Klasse IV im Jahr 1988 auf die Klasse I-II im Jahr 2000 (chemische Güteklasse II:  $\leq 0,8 \mu\text{g/l}$  Chloroform) in der Mosel und Saar zeigt, auch auf ein zunehmendes Umdenken im Bereich der Desinfektion in der Weinbereitung zurückzuführen (Ehlscheid et al. 2002).

---

<sup>8</sup> Richtlinie 2000/60/EG, ABl. L 327 S. 1, geändert durch Entscheidung Nr. 2455/2001/EG, ABl. L 331 S. 1

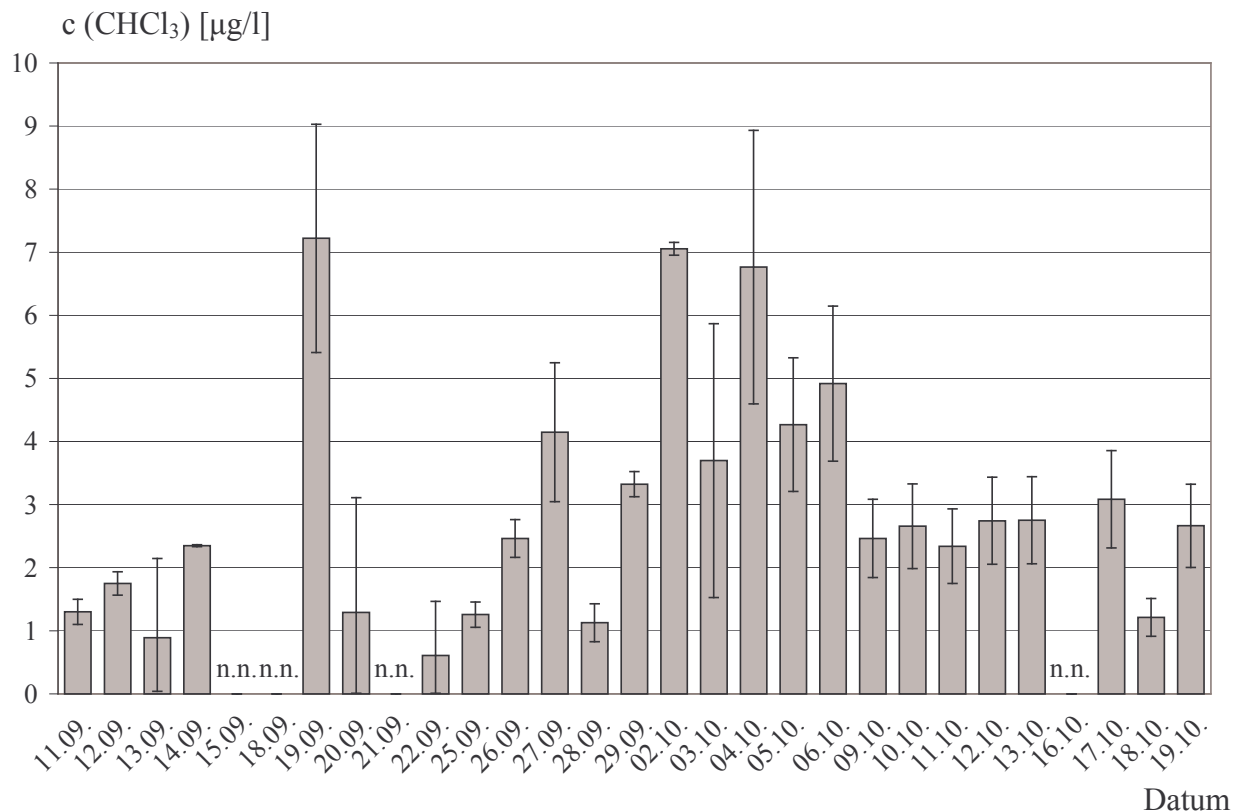


Abb. 28: Chloroform-Konzentrationen im Ablauf der Kläranlage Niederkirchen während der Weinlese (n = 2)

Da es sich bei Chloroform um eine Substanz mit relativ großer Stabilität in der Umwelt handelt (Halbwertszeit in Biosystemen bis zu 2 Jahren), die durch oxidative und reduktive Metaboliten cytotoxische Wirkungen besitzt und als „nichtgenotoxisch-cytotoxisches Kanzerogen“ im Langzeittest Nieren-, Leber- und Schilddrüsentumore verursacht (Golden et al. 1997, v. Beelen 2003, Lipscomb et al. 2004, Butterworth 2005), sollte die Belastung der Umwelt vermieden werden. Eine nennenswerte Bioakkumulation ist bei einem log P<sub>OW</sub> (n-Oktanol/Wasser-Verteilungskoeffizient / Maß für die Lipophilität einer Substanz) von 1,95 und einem log H (Henry-Konstante / Maß für das Konzentrationsverhältnis zwischen Gasphase und Wasser) von 2,5 allerdings nicht zu erwarten.

Die entstandenen Chloroform-Frachten können durch Verflüchtigung und Biodegradation in der Kanalisation verringert werden. Diesen Mechanismen kommt größere Bedeutung zu als der Elimination durch Adsorption (Namkung und Rittmann 1987). In Untersuchungen zum Verhalten von Chloroform in Kläranlagen wurden Eliminations-Raten zwischen 33% und 97% (Mittelwert 70%) (van Luin und van Starckenburg 1985) und 84% berichtet (Schröder 1987, Bhattacharya et al. 1990). Bei einem anzunehmenden Abbau der AOX in der Kläranlage von ca. 50% muss von einer Elimination der LHKW durch Verflüchtigung

ausgegangen werden (Koppe und Stozek 1993, Neitzel und Iske 1998). Eine Ursache für die Verflüchtigung ist Belüftung, die für Turbulenz und die Sauerstoffversorgung durch Lufteintrag sorgt und neben der Volatilisation einen aeroben biologischen Abbau von Substanzen ermöglicht. Die Zusammenhänge zwischen den drei Eliminations-Wegen Volatilisation, Biodegradation und Adsorption wurden von Hsieh (2000) erläutert, der eine Elimination von Chloroform bis zu 94,7% und Tetrachlorethen bis zu 97,8% im Belebtschlamm-Verfahren nachwies. Auch ein aerober und anaerober Abbau kann für die geringen Konzentrationen an Chloroform verantwortlich sein, das durch methanotrophe und ammonium-oxidierende Organismen sowie Methanmonooxygenasen aerob co-metabolisch zu chlorfreien Produkten und Kohlendioxid abgebaut werden kann (Bagley und Gossett 1995). Des Weiteren sind verschiedene Toluol-oxidierende Bakterienstämme in der Lage, Chloroform abzubauen (McClay et al. 1996). Für Bakterienstämme, die aus Abwasser und Schlämmen isoliert wurden, konnte die Nutzung von Chloroform als Kohlenstoff- und Energiequelle nachgewiesen werden (Olaniran et al. 2001, Wahman et al. 2005). Daher ist die geringe Belastung der Umwelt durch Chloroform in Weinbau-Abwasser nicht als Risiko anzusehen. Eine weitere Reduzierung des Eintrags von Chloroform ist jedoch möglich.

**Tetrachlorkohlenstoff** und **Tetrachlorethen**, die sich in den Modell-Versuchen nach Behandlung mit Natriumhypochlorit in geringen Konzentrationen gebildet hatten, konnten in den Proben der Kläranlagen nicht nachgewiesen werden. Verantwortlich hierfür ist die starke Verdünnung der Abwasser-Frachten. Der am Sediment anhaftende Teil dieser Verbindungen wird durch die Abtrennung von Grobsediment im Sandfang entfernt. **Tetrachlorkohlenstoff** kann während der Behandlung in der Kläranlage nahezu vollständig eliminiert werden. In einer Modell-Kläranlage wurden 99% entfernt, davon 38% durch Volatilisation (BUA-Stoffbericht 1990). Der  $\log P_{OW}$  von Tetrachlorkohlenstoff beträgt 2,75, eine relevante Bioakkumulation ist nicht zu erwarten. Für die Verbindung **Tetrachlorethen** wurde in Kläranlagen eine Elimination von 83,5% bzw. 84% abgeschätzt. In genanntem Beispiel wurden 83,1% bzw. 83,6% des Tetrachlorethens ausgestrippt, 0,4% durch biologischen Abbau entfernt (Namkung und Rittmann 1987). Beim anaeroben Abbau wird es als Elektronenakzeptor genutzt, es entstehen *cis*-1,2-Dichlorethen oder Vinylchlorid (van Hylckama Vlieg und Janssen 2001). Aufgrund eines  $\log P_{OW}$  von 3,4 ist eine Bioakkumulation zu erwarten.

Nach dem SimpleTreat 3.0-Model von Strujs (1996) lassen sich für Tetrachlorethen und Tetrachlorkohlenstoff Gesamt-Eliminationen von 91% bis 95% berechnen. Dabei beträgt der Anteil der Volatilisation von Tetrachlorkohlenstoff 83% bis 90% und von Tetrachlorethen

72% bis 88%. Der Anteil der Adsorption an Belebtschlamm liegt bei Tetrachlorethen zwischen 3% und 16%, bei Tetrachlorkohlenstoff unter 3%.

Der Einsatz von Natriumhypochlorit führt in der praktischen Anwendung im Weinbau zu keiner relevanten Bildung von Tetrachlorkohlenstoff und Tetrachlorethen.

In keiner Probe konnten **2,4,6-Trichloranisol** und andere halogenierte Anisole nachgewiesen werden, die sich auch in den Modell-Versuchen nicht gebildet hatten.

### 3.5.3 Halogenierte Essigsäuren

Die Abwasser-Proben aus dem Weinbau-Betrieb und der Kläranlage wurden auf die Bildung von halogenierten Essigsäuren entsprechend Kap. 6.2.2.1 und Kap. 6.2.2.2 untersucht.

#### 3.5.3.1 Dichloressigsäure in Weinbau-Abwasser

Es konnte in allen Proben, die nach Reinigung und Desinfektion mit Chlorbleichlauge genommen wurden, Dichloressigsäure nachgewiesen werden. Eine Bildung von Trichloressigsäure war nicht feststellbar.

Die Dichloressigsäure-Gehalte in den Proben aus dem Weinbau-Betrieb betrugen zwischen 92,4 mg/l und 155,3 mg/l. Der durchschnittliche Dichloressigsäure-Gehalt lag bei 125,7 mg/l. In den Abwasser-Proben, die außerhalb der Weinlese genommen wurden, konnte keine Dichloressigsäure nachgewiesen werden. Wie in den Modell-Versuchen gezeigt wurde, ist Dichloressigsäure nach Chloroform das wichtigste Nebenprodukt der Desinfektion im Weinbau. In den Proben aus den Kläranlagen konnten keine halogenierten Essigsäuren bestimmt werden.

Die Bildung halogener Essigsäuren sollte grundsätzlich vermieden werden, da es sich um Verbindungen handelt, die unter Verdacht stehen, krebserregend zu sein (Young 1993). Dichloressigsäure ist ein wahrscheinliches Hepatokarzinogen und wichtiger Metabolit bei durch Tetrachlorethen induzierter Leberkarzinogenität (McHugh Law et al. 1998). Dichloressigsäure-Konzentrationen im Trinkwasser von 0,05 mg/l sollten nicht überschritten werden (Ogilvie 2005). Die starke Verdünnung ist ein Grund für den fehlenden Nachweis von Dichloressigsäure in den Proben aus den Kläranlagen (Bestimmungsgrenze 0,02 mg/l). Es wurde im Rahmen dieser Arbeit untersucht, ob auch ein Abbau von Dichloressigsäure stattfindet. Beim aeroben Abbau von AOX ist ein relativ hoher Energie-Einsatz erforderlich, außerdem muss ausreichender molekularer Sauerstoff vorhanden sein. Es wurde von einer bis



zu 80%-igen Elimination von AOX in Laborversuchen mit *Pseudomonas* P1, *Ancylobacter aquaticus* A7 und *Methylobacterium* CP13 berichtet (Savant et al. 2006). Diese Bakterienstämme finden sich auch in den Belebtschlammern der beprobten Kläranlagen, in denen für den hetero- und autotrophen Abbau von Substanzen vor allem die Bakterienstämme *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas* (gramnegativ), *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Brevibacterium* und *Bacillus* (grampositiv) verantwortlich sind (Hamel 2001). Aus der Gruppe der Protozoen sind in diesem Zusammenhang Flagellaten, Amöben, Ciliaten, Sugtorien, Rotatorien und Nematoden zu nennen (Lipski 2002). Die Dehalogenierung unter anaeroben Bedingungen aufgrund co-metabolischer Entfernungsmechanismen ist bekannt (Drewes und Jekel 1998).

### 3.5.3.2 Aerobes Abbau-Verhalten von Dichloressigsäure

Zur Untersuchung des aeroben Abbau-Verhaltens von Dichloressigsäure wurden Untersuchungen in Anlehnung an DIN EN ISO 10707 (DEV L 46) durchgeführt. Es handelt sich um einen Test, in dem organische Stoffe auf leichte biologische Abbaubarkeit und Elimination untersucht werden und als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle für Mikroorganismen in mineralischem Medium fungieren. Die Konzentration der Dichloressigsäure betrug 2 mg/l. Als Referenzsubstanz wurde Natriumacetat verwendet. Die Lösungen wurden mit einer geringen Menge an Mikroorganismen angeimpft und bei konstanter Temperatur im Dunkeln bei  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  inkubiert. Der Abbau wurde über den Sauerstoffbedarf und die Konzentrationsbestimmung mittels GC-MS über eine Zeitspanne von 28 Tagen bestimmt. Die genaue Probendurchführung, Gültigkeit der Ergebnisse und Berechnungen sind Kap. 6.5 zu entnehmen.

In den Versuchsreihen, in denen die Dichloressigsäure-Konzentration über den Sauerstoffbedarf bestimmt wurde, war eine durchschnittliche Elimination um 68,1% nach 21 Tagen und 72,9% nach 28 Tagen feststellbar. Aufgrund der niedrigen Konzentration an Dichloressigsäure von 2 mg/l war diese Methode für eine allgemeine Feststellung der Konzentrationsabnahme geeignet, jedoch ist diese Methode bei einer Messgenauigkeit von 0,1 mg O<sub>2</sub>/l nicht sehr exakt. Weiterer Nachteil bei der Bestimmung der Elimination von Substanzen über die Sauerstoffzehrung ist, dass bei dieser Methode von einem Abbau zu Kohlendioxid und Wasser ausgegangen wird, während entstehende Metaboliten nicht erfasst werden. Eine genauere Methode, die eine Bestimmung der Konzentrationen an



Dichloressigsäure an den verschiedenen Messpunkten zulässt, ist die Bestimmung mittels GC-MS nach Probenaufarbeitung und Derivatisierung (Kap. 6.2.2.2).

In diesen Versuchsreihen wurde nach 7 Tagen eine stärkere Abnahme der Dichloressigsäure-Gehalte um 62,9% festgestellt. Nach 21 Tagen war die Konzentration an Dichloressigsäure auf 10,8% abgesunken, nach 28 Tagen auf 9,9%. In Abb. 29 ist die Elimination von Dichloressigsäure im aeroben Abbau-Versuch dargestellt.

c (Dichloressigsäure) [%]

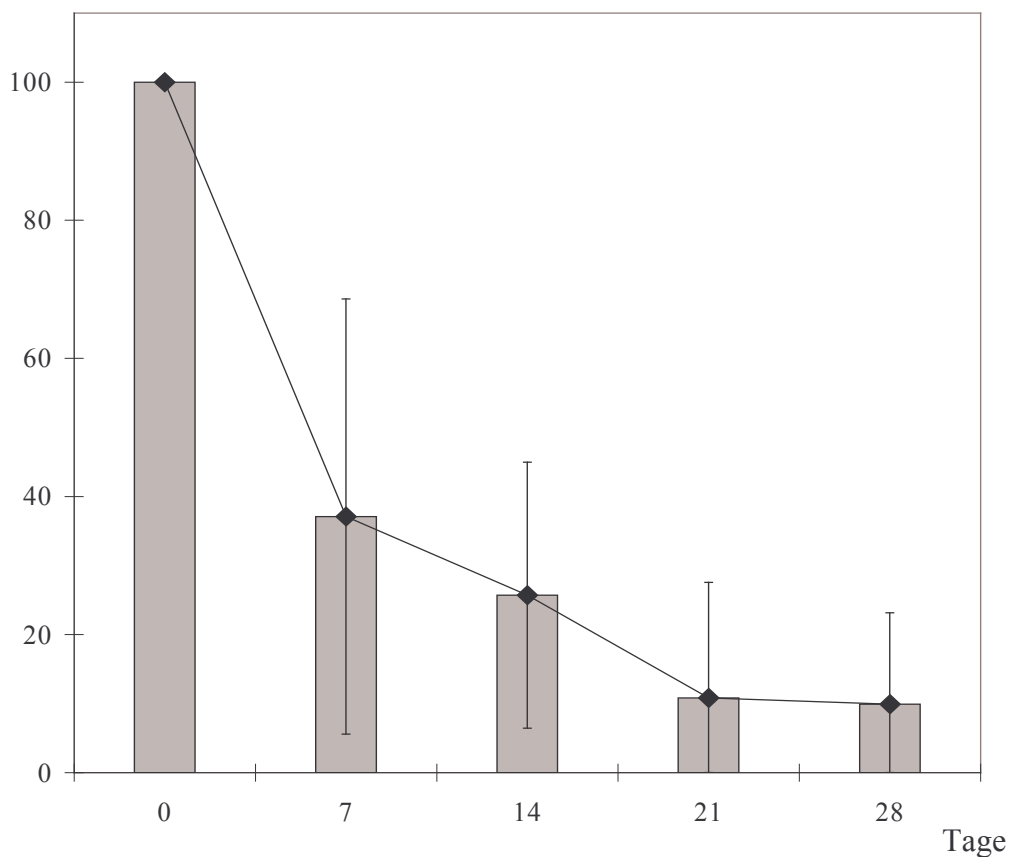


Abb. 29: Prozentuale Abnahme von Dichloressigsäure bei pH = 7 im aeroben Abbau-Versuch (modifiziert nach DIN EN ISO 10707) (n = 3)

Das Verhalten von Dichloressigsäure in der Kläranlage lässt sich nach dem SimpleTreat 3.0-Model abschätzen. Bei einem  $\log P_{OW}$  von 0,92 ist davon auszugehen, dass sich Dichloressigsäure nicht anreichert oder verflüchtigt, sondern größtenteils abgebaut wird (nach diesem Model zu 87%). Diese Berechnung stimmt mit den eigenen Untersuchungen überein. Zwar sind die Ergebnisse der Elimination stark von den Systembedingungen abhängig, aber die Ergebnisse zeigen, dass Dichloressigsäure im wässrigen Milieu schnell eliminiert wird. Im ersten Schritt einer möglichen (enzymatischen) Hydrolyse könnte durch die Entfernung von

Chlor Glykolsäure entstehen, die über Glyoxalsäure zu Oxalsäure oxidiert und anschließend zu Kohlendioxid und Wasser abgebaut wird.

Eine stärkere Elimination von Dichloressigsäure fand nach Ansäuern der Probe mit 1 M Salzsäure auf einen pH-Wert von 4 statt. In diesen Proben hatte nach 7 Tagen der Dichloressigsäure-Gehalt bereits um 83,5% abgenommen und betrug nach 28 Tagen 6,0% der Ausgangskonzentration. Bei einem pH-Wert von 10 (Zugabe 1 M Natronlauge) waren nach 7 Tagen 26,7% der Dichloressigsäure abgebaut, nach 28 Tagen waren 93,3% eliminiert. In Abb. 30 ist die Dichloressigsäure-Abnahme bei den verschiedenen pH-Werten dargestellt.

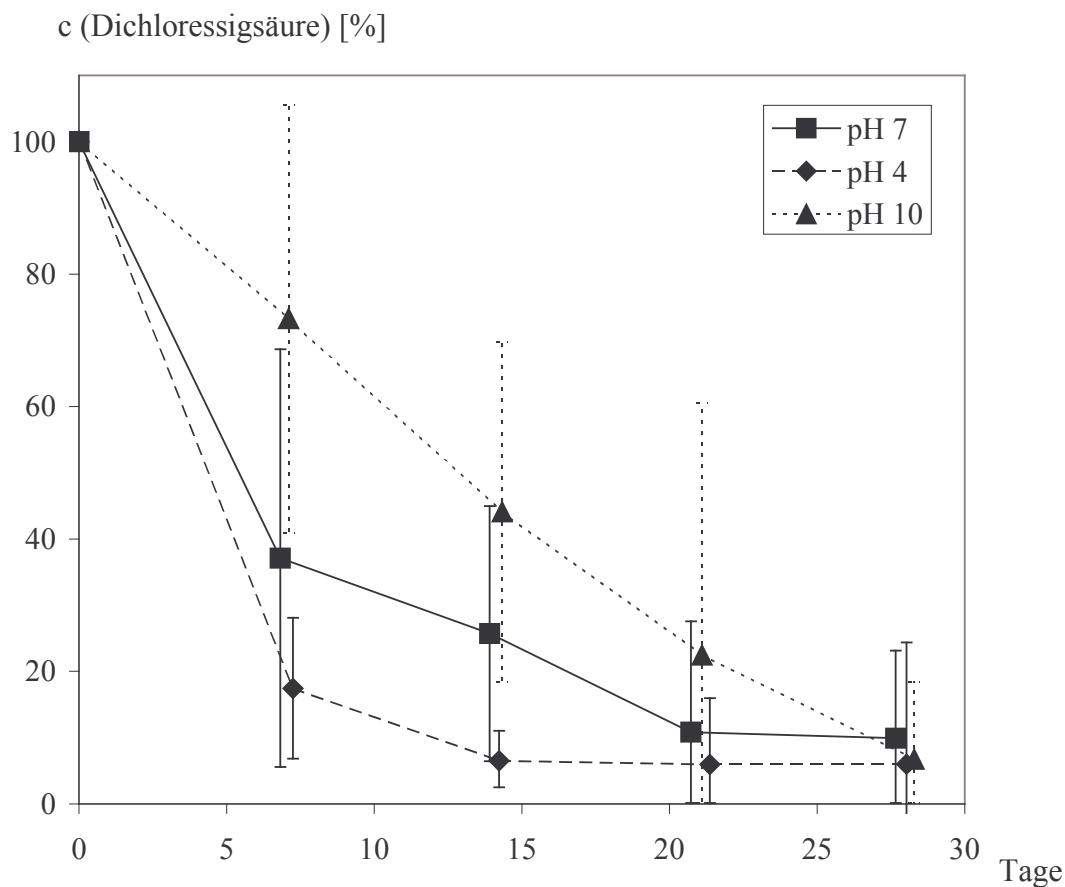


Abb. 30: Prozentuale Abnahme von Dichloressigsäure bei verschiedenen pH-Werten im aeroben Abbau-Versuch (modifiziert nach DIN EN ISO 10707) (n = 3)

Bei den Versuchen bei pH-Werten von 4 und 10 ist von einer abiotischen Elimination auszugehen. Jedoch zeigen auch diese Versuchsreihen, dass Dichloressigsäure schnell aus aquatischen Medien entfernt wird. Die Beprobung der Zu- und Abläufe von Kläranlagen, in denen keine Dichloressigsäure nachgewiesen wurde, bestätigt diese Ergebnisse.

Biodegradation ist ein wichtiger Eliminationspfad von Dichloressigsäure in aquatischen Systemen. Einige Bakterien sind dafür bekannt, Dichloressigsäure entweder co-metabolisch

oder als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle aerob abzubauen. Eine Verringerung der Konzentrationen an Dichloressigsäure im Wassernetz wird oft einer Biodegradation durch Mikroorganismen zugeschrieben, wobei die genaue Rolle der Mikroorganismen noch nicht verstanden wird (McRae et al. 2004). Ellis et al. (2001) berichten von einer schnellen Degradation der Dichloressigsäure durch enzymatische Hydrolyse. Auch ein Abbau zu Glyoxalsäure wurde untersucht (Keys et al. 2004). Hanson et al. (2003) zeigten, dass Dichloressigsäure aufgrund schneller Degradation und fehlender akkumulierender Eigenschaften nur ein geringes toxikologisches Risiko für aquatische Macrophyten darstellt. Daher kann die Entstehung von Dichloressigsäure während der Desinfektion mit Natriumhypochlorit in der Weinbereitung als unproblematisch eingeschätzt werden.

### 3.5.4 Halogenierte Aldehyde, Ketone, Acetonitrile und Chlorpikrin

In den Proben aus dem Weinbaubetrieb und den Kläranlagen wurde die Bildung von Trichloracetaldehyd, 1,1,1-Trichlorpropanon und anderer halogener Acetonitrile, Ketone und Chlorpikrin entsprechend Kap. 6.2.3.1 und Kap. 6.2.3.2 untersucht.

#### 3.5.4.1 Charakterisierung der Weinbau-Abwässer

In allen Proben, die unmittelbar nach Reinigung und -desinfektion mit Natriumhypochlorit im Weinbau-Betrieb genommen wurden, konnten Trichloracetaldehyd und 1,1,1-Trichlorpropanon identifiziert und quantifiziert werden.

Die Konzentrationen von **Trichloracetaldehyd** in den Abwasser-Proben betrugen zwischen 2,8 mg/l und 14 mg/l (Mittelwert: 9,8 mg/l). Die Gehalte von **1,1,1-Trichlorpropanon** lagen in Bereichen zwischen 2,6 mg/l und 4,4 mg/l (Mittelwert: 3,5 mg/l). Die Ergebnisse stimmen mit den Resultaten der Modell-Versuche überein, in denen diese Verbindungen ebenfalls nach Chloroform und Dichloressigsäure die wichtigsten Nebenprodukte der Desinfektion darstellten.

Im Gegensatz zu den Laborversuchen konnten in den Abwasserproben, die unmittelbar nach Reinigung und -desinfektion aus den Abwasserleitungen genommen wurden, **Dichloracetonitril** und **Chlorpikrin** nachgewiesen werden.

Die Dichloracetonitril-Bildung betrug bei Gehalten zwischen 0,2 mg/l und 0,5 mg/l im Durchschnitt 0,4 mg/l. Chlorpikrin war in den untersuchten Proben in Konzentrationen zwischen 1,8 mg/l und 2,8 mg/l nachweisbar (Mittelwert: 2,3 mg/l).

In den Abwasser-Proben, die außerhalb der Weinlese und aus den Kläranlagen entnommen wurden, konnten Trichloracetaldehyd, 1,1,1-Trichlorpropanon, Dichloracetonitril und Chlorpikrin nicht nachgewiesen werden.

Die Bildung von **Dichloracetonitril** bei Einsatz von Natriumhypochlorit, die sich durch die Haloform-Reaktion erklären lässt, ist bekannt (z.B. Untersuchungen von Kim et al. (2003) zur Bildung halogener Acetonitrile bei Behandlung von Oberflächenwasser in Konzentrationen zwischen 10,3 µg/l bis 33,6 µg/l). Die Bildung von Dichloressigsäure aus Dichloracetonitril könnte durch Hydrolyse der Nitril-Funktion möglich sein. Dichloracetonitril ist eine mutagene, kanzerogene und teratogene Verbindung (Nouraldein und Ahmed 1996), die eine Hemmung der Glutathion-S-Transferase in Leber und Magen bewirkt (Ahmed et al. 1991). Bei **Chlorpikrin** handelt es sich um eine Verbindung mit mutagenen Eigenschaften, deren Bildung bei Desinfektion mit Natriumhypochlorit aus Aminosäuren, Huminsäuren und Nitrophenolen beobachtet wurde (Ogilvie 2005). Auch wenn ein Eintrag von Dichloracetonitril und Chlorpikrin in die Umwelt nicht feststellbar war, sollte eine Bildung dieser Verbindungen vermieden werden.

Obwohl **Trichloracetaldehyd** in hohen Konzentrationen während der Desinfektion mit Natriumhypochlorit gebildet wird, konnte es in den Proben aus der Kläranlage nicht nachgewiesen werden. Eine Ursache ist die starke Verdünnung, weitere Gründe können Adsorptionseffekte und der Abbau dieser Verbindung darstellen.

#### 3.5.4.2 Aerobes Abbau-Verhalten von Trichloracetaldehyd

Die aerobe Elimination von Trichloracetaldehyd, dem dritten wichtigen Nebenprodukt der Desinfektion mit Natriumhypochlorit in der Weinbereitung, wurde in Anlehnung an DIN EN ISO 10707 (DEV L 46) untersucht (Kap. 6.5.1). In den Versuchsreihen wurden dieselben Kriterien für Durchführung und Gültigkeit der Versuche und Berechnung der Ergebnisse erfüllt wie bei den Versuchen mit Dichloressigsäure (Kap. 3.5.3.2).

Die Bestimmung der Konzentration an Trichloracetaldehyd erfolgte über die Messung des Sauerstoffbedarfs und GC-MS nach Probenaufarbeitung. In den Versuchsreihen, in denen der prozentuale Abbaugrad über die Sauerstoffzehrung bestimmt wurde, nahm die Trichloracetaldehyd-Konzentration in den ersten 7 Tagen um 43,9% ab und betrug nach 14 Tagen 25,2% der ursprünglich eingesetzten Konzentration von 2 mg/l. Nach 21 und 28 Tagen betrugen die Gehalte an Trichloracetaldehyd 32,2% bzw. 36,9% der ursprünglichen Konzentration. Diese höheren Werte im Vergleich zu den Messwerten nach 14 Tagen können

ihre Ursache in der geringeren Sensitivität der Methode im Vergleich zur Bestimmung mittels GC-MS und der geringen Trichloracetaldehyd-Konzentration von 2 mg/l mit einem theoretischen Sauerstoffbedarf von 0,22 mg O<sub>2</sub>/mg Trichloracetaldehyd haben, die zu Messungenauigkeiten führte.

Bei der Bestimmung der Trichloracetaldehyd-Gehalte mittels GC-MS betrugen die Abbauraten nach 7, 14, 21 und 28 Tagen 35,7%, 68,5%, 79,5% und 96,4%. In Abb. 31 sind die prozentualen Trichloracetaldehyd-Gehalte bei Bestimmung über den Sauerstoffbedarf und Messung mittels GC-MS dargestellt.

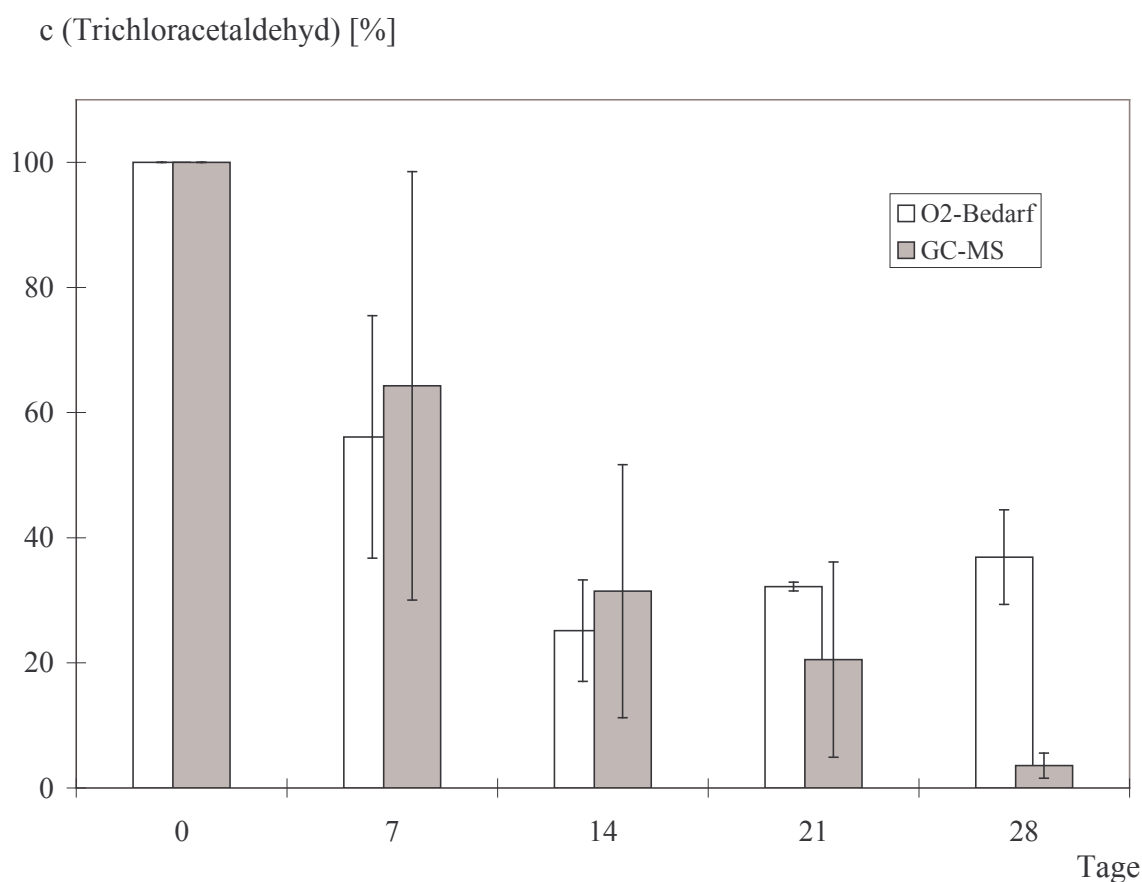


Abb. 31: Prozentuale Abnahme von Trichloracetaldehyd im aeroben Abbau-Versuch – Vergleich der Bestimmung über Sauerstoffbedarf (n = 4) und GC-MS (n = 4)

Bei der Beurteilung des Verhaltens von Trichloracetaldehyd muss berücksichtigt werden, in welcher Form die Verbindung vorliegt. Die Carbonyl-Gruppe im Trichloracetaldehyd besitzt einen Carbokation-Charakter, der durch die Chlor-Substituenten beeinflusst wird. Die nichthydratisierte Form wird relativ zur hydratisierten Form destabilisiert. Daher liegt Trichloracetaldehyd in wässrigem Milieu mit einer Gleichgewichts-Konstante von ungefähr 500 als Diol vor und existiert praktisch ausschließlich als Hydrat. Für Trichloracetaldehyd ist ein mikrobieller Abbau möglich. So wurde von Newman und Wackett (1991) der Abbau mit

dem Bakterium *Methylosinus trichosporium* Ob3b untersucht, bei dem die Verbindung über die Metaboliten Trichlorethanol und Trichloressigsäure zu Chloroform und Ameisensäure umgesetzt wurde. Die Konzentration an Trichloracetaldehyd nimmt unter aeroben Bedingungen im wässrigen Milieu innerhalb von 28 Tagen stark ab. Diese Elimination kann auf mikrobiologischen Prozessen beruhen, hat im vorliegenden Fall aber abiotische Ursachen. Die Versuchsreihen wurden bei den pH-Werten 4 und 10 durchgeführt (Einstellung mit 1 M NaOH bzw. 1 M Salzsäure). Im sauren Milieu war das Trichloracetaldehyd stabil. Bei steigenden pH-Werten wird das Trichloracetaldehyd instabiler. So war bei einem pH-Wert von 10 nach 7 Tagen fast kein Trichloracetaldehyd mehr bestimmbar (1,8%) (Abb. 32).

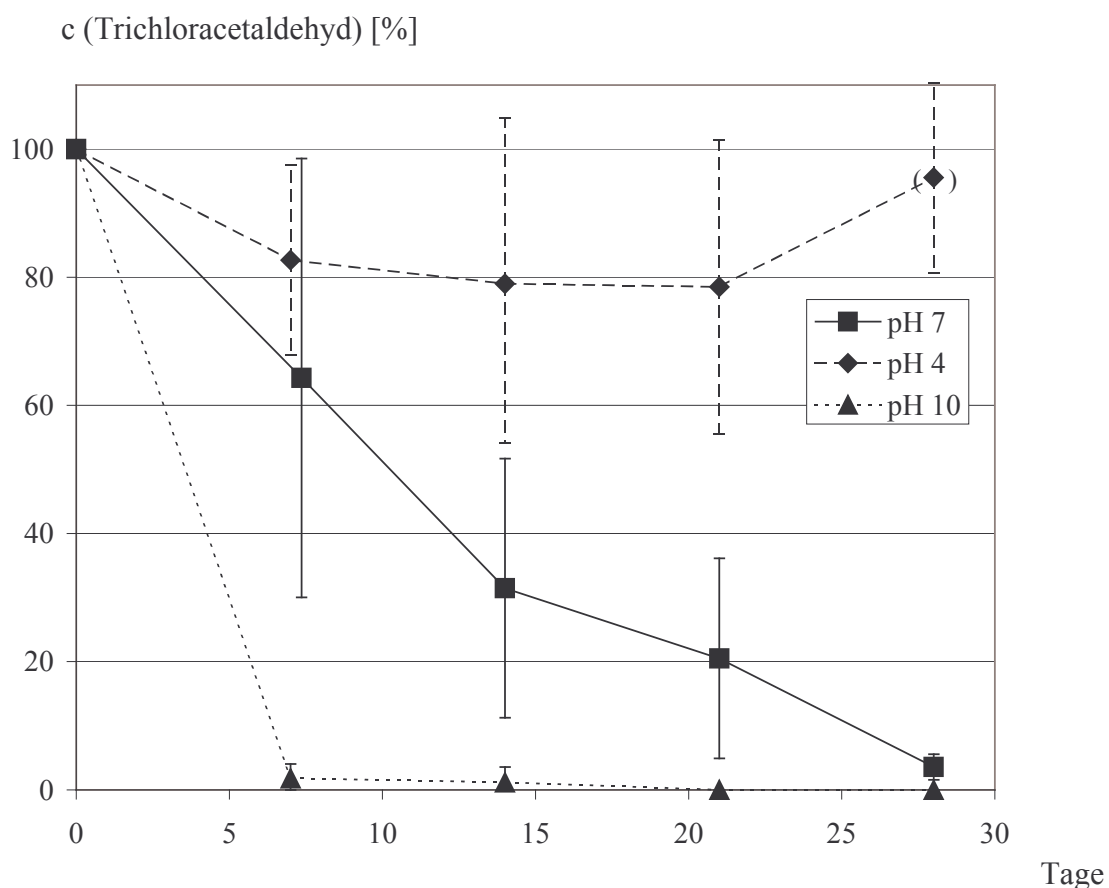


Abb. 32: Prozentuale Abnahme von Trichloracetaldehyd bei verschiedenen pH-Werten im aeroben Abbau-Versuch (modifiziert nach DIN EN ISO 10707) (n = 4)

Diese Ergebnisse stimmen mit Versuchen von Koudjonou und LeBel (2006) überein, die in Versuchen bei einem pH-Wert von 4,5 keine Verringerung der Trichloracetaldehyd-Konzentrationen feststellen konnten, während im neutralen Milieu bei einer Temperatur von 22°C eine Elimination von halogenierten Aldehyden stattfand, die bei schwach alkalischen Bedingungen anstieg. Untersuchungen zur Elimination von AOX aus der Holzindustrie

wurden von Barton und Payne (1999) im Labormaßstab durchgeführt. Durch eine chemische Behandlung wurden die AOX um 60% reduziert. Annähernd 40% der AOX, die durch eine alkalische Behandlung bei höherer Temperatur zerstört wurden, waren biodegradierbar, 25% wurden unter milden Bedingungen, die ähnlich den in biologischen Prozessen zu erwartenden Bedingungen waren, alkalisch hydrolysiert. Auch diese Ergebnisse deuteten darauf hin, dass viele AOX durch thermoalkalische Behandlung eliminiert werden können. Das im Rahmen der Desinfektion mit Natriumhypochlorit im Weinbau entstehende Trichloracetaldehyd stellt eine dieser Verbindungen dar.

Im stark alkalischen Milieu ist der Zerfall von Trichloracetaldehyd zu Chloroform und Carbonat bekannt (Bahadir et al. 2000), die Bildung von Chloroform durch Oxidation und Hydrolyse wurde von Takahashi et al. (2003) im neutralen Milieu untersucht. Eine vergleichbare Abnahme der Trichloracetaldehyd-Konzentrationen war in den Lösungen, die nicht inokuliert wurden, feststellbar. Die Abnahme von Trichloracetaldehyd ist somit nicht auf mikrobielle Aktivität, sondern auf physikalisch-chemische Prozesse zurückzuführen. Bei den Eliminations-Produkten sollte es sich insbesondere um das korrespondierende Chloroform handeln, dass in Versuchen von LeBel und Benoit (2000) als wesentliches Degradations-Produkt identifiziert wurde. Das während der Desinfektion entstehende Trichloracetaldehyd lässt sich durch eine alkalische Behandlung der Abwässer entfernen. Auch im neutralen Milieu findet eine Elimination statt. In den Zu- und Abläufen von Kläranlagen konnte kein Trichloracetaldehyd nachgewiesen werden. Die Entstehung von Trichloracetaldehyd im Rahmen der Desinfektion mit Natriumhypochlorit in der Weinbereitung sollte vermieden werden, stellt aber keine wesentliche Bedrohung für aquatische Systeme dar.

### **3.5.5 Aromatische halogenierte Säuren**

Die Untersuchung von 2-Chlor-/2,4-Dichlorphenylelessigsäure, 2-Chlor-/2,4-Dichlorbenzoesäure und 4,5-Dichlorphthalsäure in den Proben aus dem Weinbau-Betrieb und den Zu- und Abläufen der Kläranlagen erfolgte entsprechend den in Kap. 6.2.4 genannten Bedingungen. Abb. 33 zeigt das Massenspektrum von 2,4-Dichlorphenylelessigsäure.

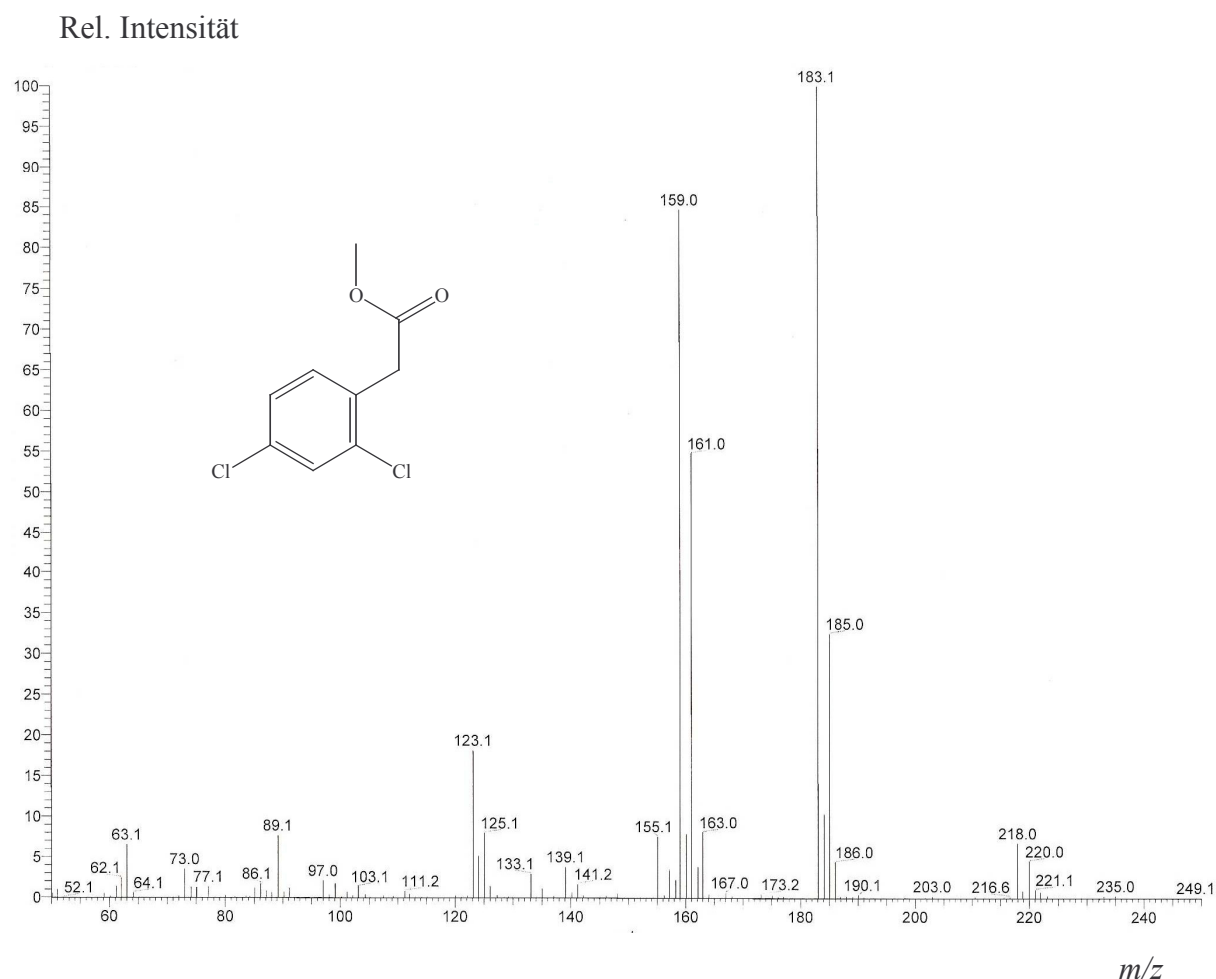


Abb. 33: Massenspektrum von 2,4-Dichlorphenylessigsäure (als Methylester, EI-Modus, 70 eV)

Die dominierenden aromatischen halogenierten Säuren in den Proben aus dem Weinbau-Betrieb waren **2-Chlor- und 2,4-Dichlorphenylessigsäure**. So konnten in den Proben bis zu 48,4 µg/l 2-Chlorphenylessigsäure und 21,1 µg/l 2,4-Dichlorphenylessigsäure bestimmt werden. Die bestimmbare Konzentration an **2-Chlorbenzoesäure** betrug 3,5 µg/l. Auch in den Abwässern, die außerhalb der Weinlese genommen wurden, waren die Verbindungen nachweisbar. Wie schon in den Modell-Versuchen waren die Konzentrationen an 2-Chlorphenylessigsäure bei Einsatz von Natriumhypochlorit am höchsten. In Abb. 34 sind die Konzentrationen der aromatischen halogenierten Säuren in Proben aus dem Weinbau-Betrieb dargestellt.



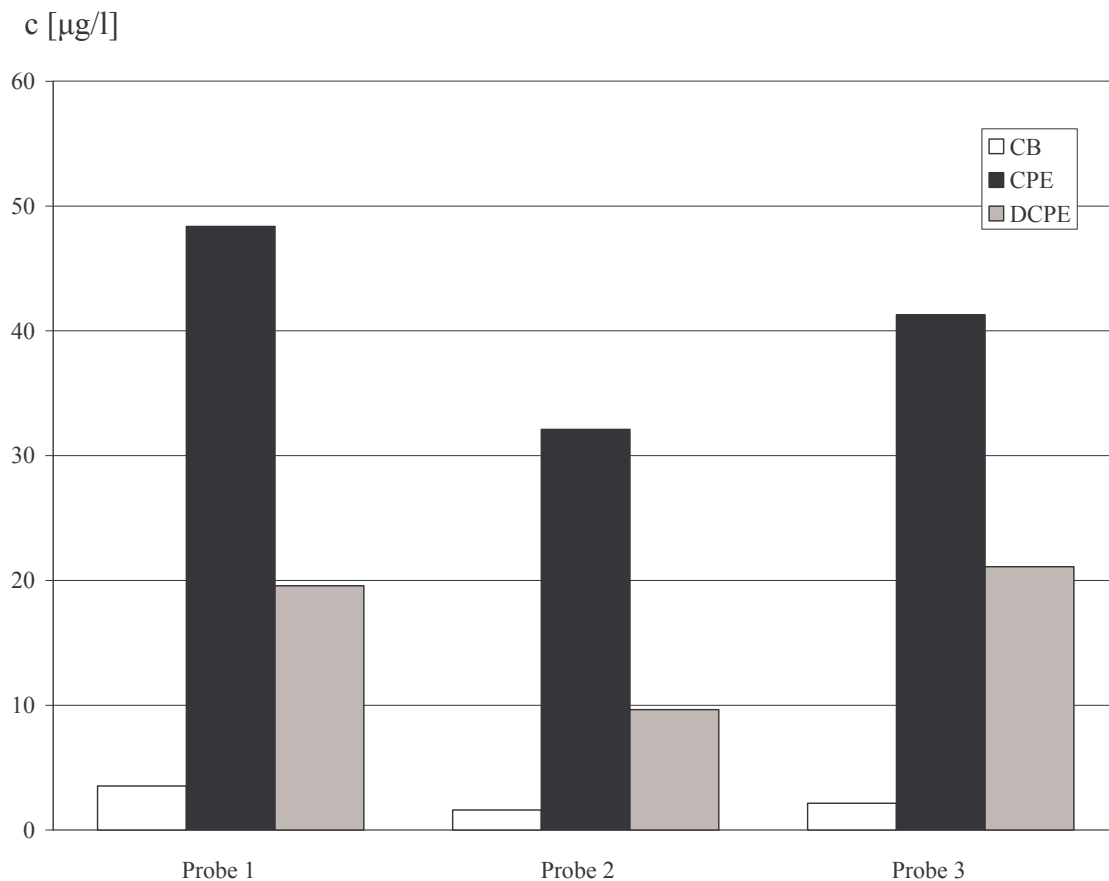


Abb. 34: Konzentrationen von 2-Chlorphenylessigsäure (CPE), 2,4-Dichlorphenylessigsäure (DCPE) und 2-Chlorbenzoesäure (CB) in Abwässern eines Weinbaubetriebes nach Desinfektion mit Chlorbleichlauge

2,4-Dichlorbenzoesäure und 4,5-Dichlorphthalsäure konnten in den Proben aus dem Weinbau-Betrieb nicht nachgewiesen werden.

In den Proben aus der Kläranlage waren die Konzentrationen an aromatischen halogenierten Säuren vor allem in den letzten beiden Oktober-Wochen erhöht. In den Abläufen der Kläranlage Neustadt/Weinstraße waren 2-Chlorphenylessigsäure-Gehalte bis zu  $18,2 \mu\text{g/l}$  messbar, in den Zuläufen betrug die Konzentration bis zu  $14,2 \mu\text{g/l}$ . In Abb. 35 sind die Gehalte von 2-Chlorphenylessigsäure in den Zu- und Abläufen der Kläranlage Neustadt/Weinstraße wiedergegeben.

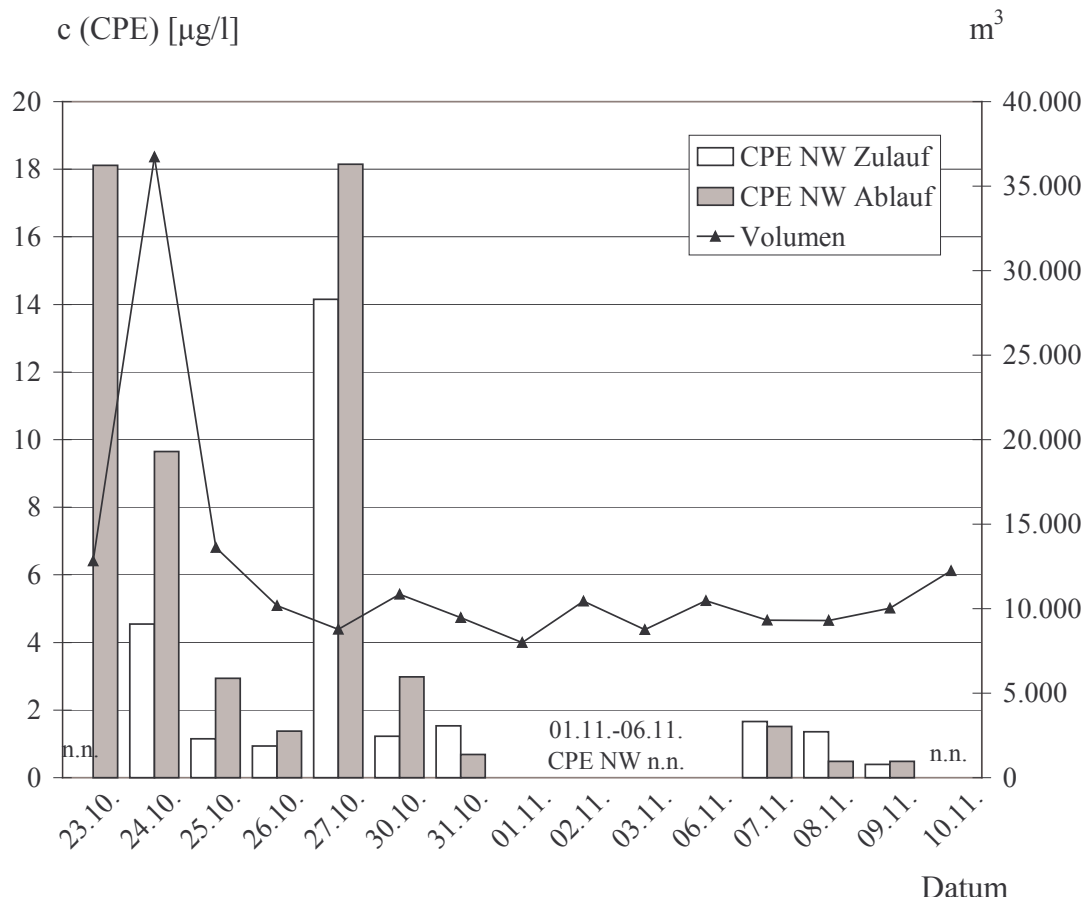


Abb. 35: Konzentration an 2-Chlorphenyllessigsäure (CPE) in Zu- und Abläufen der Kläranlage Neustadt/Weinstraße

Die 2,4-Dichlorphenyllessigsäure-Gehalte in Proben der Kläranlage NW betrugen maximal 24,6 µg/l (Ablauf) bzw. 21,1 µg/l (Zulauf) und sind in Abb. 36 dargestellt. DCPE war bis zum 23. Oktober in keiner Probe nachweisbar und trat im Zeitraum vom 24. bis 31. Oktober und in geringeren Konzentrationen bis zu 2,2 µg/l vom 07. bis zum 09. November auf. Daher muss im Zeitraum der Weinlese von einem erhöhten täglichen Ausstoß an DCPE ausgegangen werden.

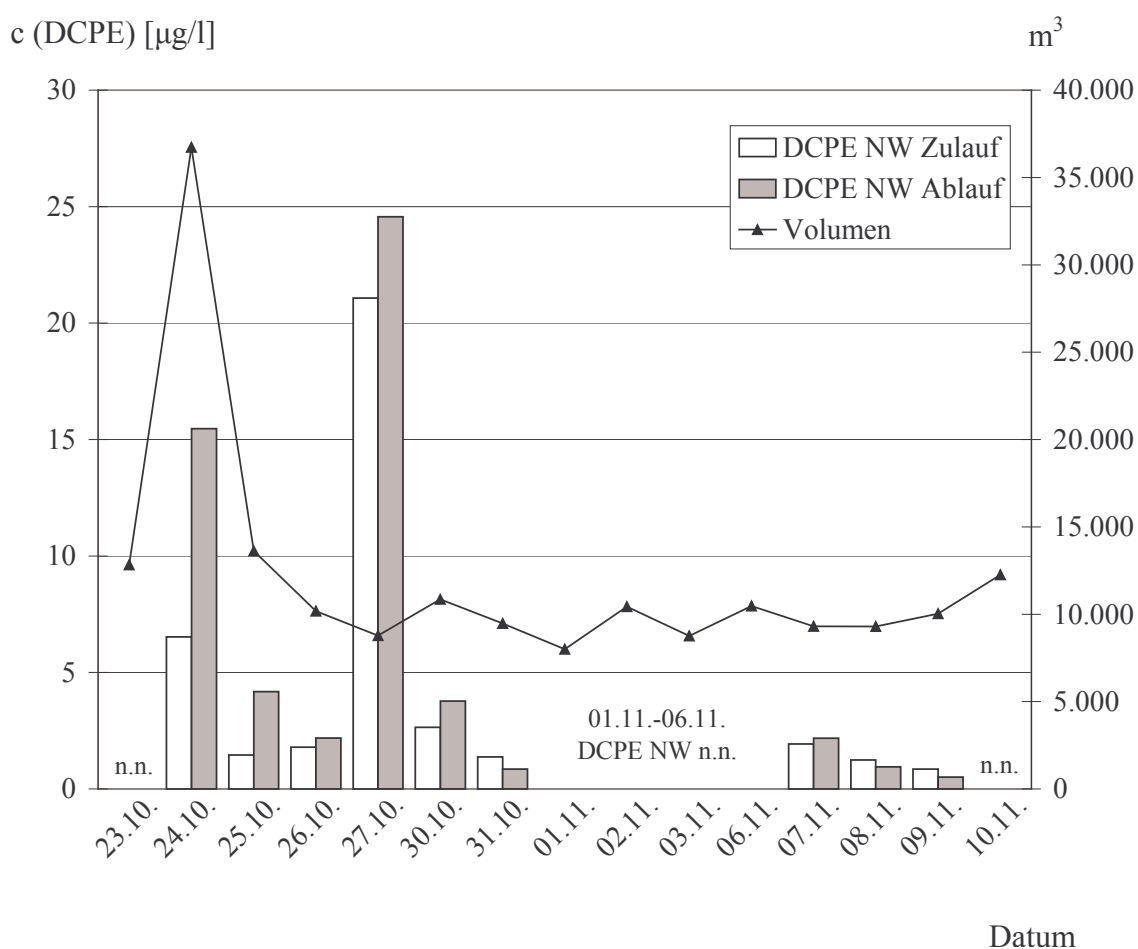


Abb. 36: Konzentration an 2,4-Dichlorphenylessigsäure (DCPE) in Zu- und Abläufen der Kläranlage Neustadt/Weinstraße

In den Proben konnten **2-Chlor- und 2,4-Dichlorbenzoesäure** nachgewiesen werden.

Die höchste gemessene 2-Chlorbenzoesäure-Konzentration betrug im Zulauf der Kläranlage Neustadt/Weinstraße 36,7 µg/l, im Ablauf 34,2 µg/l. 2,4-Dichlorbenzoesäure wurde in Konzentrationen bis zu 52,1 µg/l (Zulauf) bzw. 57,0 µg/l (Ablauf) gemessen. In Tab. 23 werden die Konzentrationen der chlorierten Benzoesäuren in den Proben der Kläranlage NW dargestellt. Das Vorkommen von 2,4-Dichlorbenzoesäure, die in den Proben aus dem Weinbau-Betrieb nicht nachgewiesen wurde, könnte durch den Einsatz von Fungiziden verursacht worden sein. So ist von dem im Weinbau gegen Oidium eingesetzten Wirkstoff Penconazol bekannt, dass sich seine Abbau- und Reaktionsprodukte als 2,4-Dichlorbenzoesäure bestimmen lassen (vgl. Anlage 2 RHmV)<sup>9</sup>. Aus den im Weinbau

<sup>9</sup> RHmV, BGBl. I 1999 S. 2082, zuletzt geändert durch Art. 1 Siebzehnte Verordnung zur Änderung der RHmV, BGBl. I 2006 S. 2154

verbreiteten Fungiziden Propiconazol und Pyrifenox kann ebenfalls 2,4-Dichlorbenzoesäure entstehen.

Tab. 23: Chlorierte Benzoessäuren in Proben der Kläranlage Neustadt/Weinstraße

Datum	c (CB) [ $\mu\text{g/l}$ ]		c (DCB) [ $\mu\text{g/l}$ ]	
	Zulauf	Ablauf	Zulauf	Ablauf
23.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
24.10.	7,5	17,3	13,3	24,6
25.10.	2,1	4,4	3,2	7,5
26.10.	2,1	3,0	3,8	5,9
27.10.	36,7	34,2	52,1	57,0
30.10.	4,8	5,8	9,2	10,1
31.10.	3,4	2,2	5,6	2,4
01.11.	1,3	1,8	2,4	2,8
02.11.	n.b.	n.b.	n.n.	n.b.
03.11.	n.b.	n.n.	n.n.	n.n.
06.11.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
07.11.	2,9	2,9	5,4	4,0
08.11.	2,8	1,5	4,4	2,3
09.11.	n.n.	1,0	n.n.	1,0
10.11.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

CB: 2-Chlorbenzoesäure; DCB: 2,4-Dichlorbenzoesäure

In den Abläufen der Kläranlage Niederkirchen traten 2-Chlorphenylelessigsäure und 2,4-Dichlorphenylelessigsäure in Konzentrationen bis zu 20,7  $\mu\text{g/l}$  (2-Chlorphenylelessigsäure) und 57,3  $\mu\text{g/l}$  (2,4-Dichlorphenylelessigsäure) auf. In den Proben konnten 2-Chlor- und 2,4-Dichlorbenzoesäure nachgewiesen werden. Die höchste gemessene 2-Chlorbenzoesäure-Konzentration im Ablauf der Kläranlage Niederkirchen betrug 55,5  $\mu\text{g/l}$ , die höchste 2,4-Dichlorbenzoesäure-Konzentration 56,5  $\mu\text{g/l}$ .

In Abb. 37 sind die Konzentrationen der aromatischen Säuren in den Abläufen der Kläranlage Niederkirchen wiedergegeben.

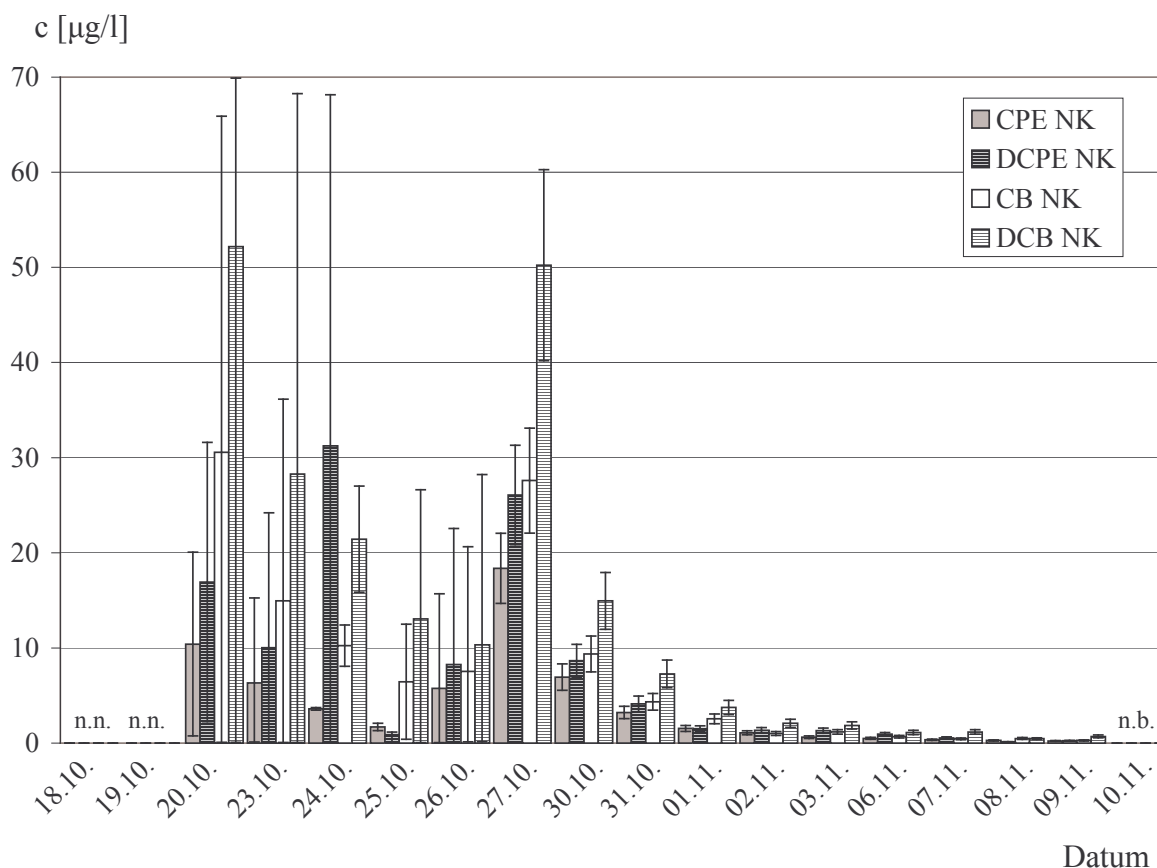


Abb. 37: Konzentrationen an 2-Chlorphenylessigsäure (CPE), 2,4-Dichlorphenylessigsäure (DCPE), 2-Chlorbenzoesäure (CB) und 2,4-Dichlorbenzoesäure (DCB) in Abläufen der Kläranlage Niederkirchen (n = 2)

4,5-Dichlorphthalsäure konnte in den Proben aus den Kläranlagen nicht nachgewiesen werden.

Die leichte Erhöhung der Konzentrationen an aromatischen Säuren in Zu- und Abläufen der Kläranlagen während der Weinlese könnte ihre Ursache in dem Einsatz von Natriumhypochlorit haben. In den Simulationsversuchen waren diese Verbindungen potentielle Nebenprodukte der Desinfektion. Da sich in diesen Versuchen die halogenierten aromatischen Säuren ebenfalls nur in geringen Konzentrationen bildeten und von einer erheblichen Verdünnung der Abwässer auszugehen ist, haben sich die in den Kläranlagen nachgewiesenen aromatischen halogenierten Säuren nicht direkt während der Desinfektion gebildet. Eine Erklärung für das Vorhandensein dieser Verbindungen könnte der Einsatz von chloraromatischen Fungiziden (v.a. Penconazol, Propiconazol, Boscalid, Pyrifenox, Dimethomorph, Tebuconazol) und Entstehung von Abbau- und Reaktionsprodukten sein. Der Nachweis von 2,4-Dichlorbenzoesäure, die sich in den Modell-Versuchen und den Proben aus dem Weinbau-Betrieb nicht nachweisen ließ, unterstützt diese Vermutung. Möglich ist auch

eine nachträgliche Bildung der Verbindungen durch mikrobielle Aktivität. Die Umsetzung von Natriumhypochlorit könnte auch in der Kläranlage selbst geschehen, was die erhöhten Werte in den Abläufen im Gegensatz zu den Zuläufen erklären könnte. So gibt es wenige Quellen über eine natürliche Bildung von chlorierten Benzoesäuren. Konzentrationen chlorierter Benzoesäuren zwischen 0,11 µg/l und 0,48 µg/l wurden von Niedan und Schöler (1997) berichtet. Bekannt ist die Entstehung dieser Verbindungen beim mikrobiellen Abbau von polychlorierten Biphenylen. Ein Abbau durch natürliche Bakterienpopulationen ist unwahrscheinlich, obwohl es wenige aromatenabbauende Bakterien gibt, die auch Chlorbrenzcatechine, die zentralen Metaboliten des Chloraromaten-Abbaus, unter Zugabe bestimmter Substrate abbauen können. Meistens versickern entstandene Chlorbrenzcatechine jedoch in unproduktiven Abbau-Pfaden oder entgehen durch Autoxidation und Polymerisation einem weiteren mikrobiellen Abbau (Ottow und Bidlingmaier 1997). 2-Chlorbenzoesäure und 2,4-Dichlorphenylelessigsäure wurden in die Wassergefährdungsklasse 3 (stark wassergefährdend) eingeordnet. Aufgrund der berechneten  $\log P_{OW}$  von 2,07 (2-Chlorbenzoesäure) und 2,72 (2,4-Dichlorphenylelessigsäure) ist eine nennenswerte Bioakkumulation nicht zu erwarten. Die Entstehung halogener aromatischer Säuren während der Weinlese kann als unproblematisch angesehen werden.

### 3.5.6 Halogenierte Phenole und Toluole

Die Analytik halogener Phenole und Toluole erfolgte gemäß Kap. 6.2.5. In den Proben aus dem Weinbau-Betrieb konnte eine Bildung von halogenierten Phenolen ausgeschlossen werden. Jedoch wurde in den Proben 2,4-Dichlortoluol identifiziert (Absicherung der Identifizierung über Messungen im CI-Modus (Reaktand-Gase: Methanol, Wasser) und MS/MS-Fragmentierung der Ionen  $m/z = 160$  und  $m/z = 125$ ) und über die charakteristischen Massen  $m/z = 160, 125, 89$  quantifiziert. Es ergaben sich 2,4-Dichlortoluol-Gehalte zwischen 1,1 mg/l und 4,3 mg/l (Mittelwert 2,9 mg/l). In den Proben, die außerhalb der Weinlese genommen wurden, konnte kein 2,4-Dichlortoluol nachgewiesen werden.

### 3.5.7 3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon

Die Untersuchung von 3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon (MX) erfolgte nach Kap. 6.2.7. In den Abwasser-Proben konnte die Verbindung nicht nachgewiesen werden.

### 3.5.8 Gesamtzusammensetzung der Proben

In Tab. 24 sind die Konzentrationen der Desinfektions-Nebenprodukte der Proben aus dem Weinbau-Betrieb wiedergegeben. Es bildete sich Chloroform in den höchsten Konzentrationen, gefolgt von Dichloressigsäure. Halogenierte aromatische Säuren waren in geringer Konzentration nachweisbar.

Tab. 24: Zusammensetzung der Desinfektions-Nebenprodukte im Abwasser eines Weinbau-Betriebes nach Desinfektion mit Chlorbleichlauge

Substanz	Konzentrationsbereich [mg/l]	Ø [mg/l]
Chloroform	558-703	633
Dichloressigsäure	92-155	125,7
Trichloracetaldehyd	2,8-14	9,8
Trichlorpropanon	2,6-4,4	3,5
2,4-Dichlortoluol	1,1-4,3	2,9
Chlorpikrin	1,8-2,8	2,3
Dichloracetonitril	0,2-0,5	0,4
2-Chlorphenylelessigsäure	0,030-0,052	0,041
2,4-Dichlorphenylelessigsäure	0,008-0,024	0,017
2-Chlorbenzoesäure	0,001-0,005	0,002

Die Entstehung dieser Verbindungen wäre durch einen Verzicht auf Natriumhypochlorit-haltige Desinfektionsmittel vermeidbar. In Untersuchungen von Heil (1999) wurde gezeigt, dass durch den Einsatz von 2%-iger Natronlauge und Verzicht auf Natriumhypochlorit die Belastung mit chlororganischen Verbindungen stark reduziert war. Eine weitere Möglichkeit zur Reduzierung der Desinfektions-Nebenprodukte ist eine Verringerung der organischen Ausgangssubstrate, z.B. durch eine getrennte Erfassung und Entsorgung von Hefe-, Schönungstrub und Bodenhefe sowie durch Grobstoffabscheidungen und Filtration. Reinigungsverfahren vor der Desinfektion (z.B. Hochdruckreinigung), Einsatz von Natriumhypochlorit bei niedriger Temperatur und in geringen Konzentrationen, Kreislaufführung von Desinfektions-Lösungen und die getrennte Erfassung und Entsorgung fester oder flüssiger Rückstände, z.B. Trubkuchen, Trester und Kieselgurfilterkuchen, stellen weitere Möglichkeiten zur Reduzierung der Bildung von AOX dar. In anderen Bereichen der

Desinfektion wurde in diesem Zusammenhang die Koagulation, Aktivkohle-Filtration und Membranfiltration (Nanofiltration oder Umkehrosmose) vorgeschlagen (Richardson 2003).

Bei der Reduzierung der Konzentrationen an AOX durch physikalische, chemische und elektrochemische Methoden stellt sich das Problem der wirtschaftlichen Durchführbarkeit. Es besteht die Möglichkeit der Reduktion der AOX-Gehalte durch Einsatz von Wasserstoffperoxid, UV und Eisen(II) („Fenton-Reagenz“) in verschiedenen Kombinationen, mit denen die Belastungen durch AOX und CSB fast vollständig vermieden werden können. In den letzten Jahren ist ein zunehmendes Aufkommen von Kombinationen aus klassischen Oxidationsmitteln und UV oder einem Katalysator zu verzeichnen („advanced oxidation processes“ – AOPs). Biologische Methoden haben meistens zu geringe Abbau-Raten (Höfl et al. 1997). Die eigenen Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass die Belastung durch AOX in der Weinbereitung durch Volatilisation und aeroben Abbau der Nebenprodukte verringert wird.



## 4 Zusammenfassung

Das AOX-Bildungspotential von Natriumhypochlorit und Peroxyessigsäure während des kellertechnischen Weinausbaus wurde untersucht. Bei der Simulierung von Desinfektions- und Reinigungsvorgängen betrugen die AOX-Gehalte bei Einsatz von Natriumhypochlorit in Abhängigkeit von Reaktionstemperatur, Natriumhypochlorit-Konzentration und organischem Material bis zu 288220 µg/l. Bei der Darstellung von Abwassersammeltank und -kanal bildeten sich bis zu 37650 µg/l AOX. Die prozentuale Umsetzung des Natriumhypochlorits zu AOX betrug zwischen 0,1% und 11,0%. Aus dem Einsatz von Natriumhypochlorit in der Weinbereitung resultiert die Entstehung großer Mengen an AOX. Bei Einsatz von Peroxyessigsäure wurde nur in der Siedehitze eine relevante Bildung von AOX bis zu 1600 µg/l festgestellt. Unter den herkömmlichen Bedingungen der Desinfektion ist die Bildung von AOX durch Peroxyessigsäure zu vernachlässigen. Peroxyessigsäure kann unter dem Aspekt der AOX-Bildung als unbedenkliche Alternative zu Natriumhypochlorit angesehen werden.

Die AOX wurden entsprechend ihrer chemischen und physikalischen Eigenschaften fraktioniert. Der Hauptteil der AOX besitzt hydrophile und saure Eigenschaften. Es wurden einzelne halogenorganische Verbindungen bestimmt. In allen Proben konnte Chloroform in hohen Konzentrationen bestimmt werden. Tetrachlorkohlenstoff und Tetrachlorethen waren identifizierbar. Dichloressigsäure und Trichloracetaldehyd bildeten sich in hohen Konzentrationen. Des Weiteren waren in vielen Proben 1,1,1-Trichlorpropanon, 2,4-Dichlorbenzoesäure und 2-Chlor-/2,4-Dichlorphenylessigsäure nachweisbar. Eine direkte Bildung der für Aromafehler („Korkton“) in Wein verantwortlichen chlorierten Anisole war nicht feststellbar, jedoch kann die Bildung dieser Substanzen durch nachträgliche mikrobielle Aktivität nicht ausgeschlossen werden. Es war nicht möglich, die Entstehung von N-Chloramino- bzw. N,N-Dichloramino-Verbindungen aus Aminosäuren nachzuweisen, jedoch fanden Reaktionen zu unchlorierten Aldehyden und Nitrilen statt. Die Umsetzung wurde am Beispiel von Phenylalanin untersucht, das sich bis zu 88,4% zu Phenylacetonitril und Phenylacetaldehyd umsetzte. Bei den Aldehyden und Nitrilen handelte es sich um geruchsintensive Verbindungen. Zur Vermeidung eines negativen sensorischen Einflusses auf den Wein sollte bei der Desinfektion von Gegenständen und Oberflächen, die direkt mit dem Lebensmittel in Berührung kommen, auf den Einsatz von Natriumhypochlorit verzichtet werden.

Unter Berücksichtigung des Adsorptionsverhaltens und der Wiederfindung nachgewiesener Substanzen als AOX besitzen die Verbindungen Chloroform, Dichloressigsäure und

Trichloracetaldehyd die höchsten Anteile am Summenparameter AOX und sind die wichtigsten Nebenprodukte der Desinfektion in der Weinbereitung.

Während der Weinlese 2005 wurde ein Weinbau-Betrieb beprobt. Auch in diesen Proben war Chloroform neben Dichloressigsäure und Trichloracetaldehyd das dominierende Nebenprodukt. Des Weiteren waren 1,1,1-Trichlorpropanon, 2,4-Dichlortoluol, Chlorpikrin, Dichloracetonitril, 2-Chlorphenylelessigsäure, 2,4-Dichlorphenylelessigsäure und 2-Chlorbenzoesäure quantifizierbar. Außerhalb der Weinlese waren diese Verbindungen nicht nachweisbar. Die Ergebnisse der Modell-Versuche konnten übertragen werden.

Während der Weinlese 2006 wurde in den Zu- und Abläufen von zwei Kläranlagen Chloroform in geringen Konzentrationen bis zu 7,2 µg/l nachgewiesen. Andere Nebenprodukte der Desinfektion waren nicht detektierbar. Die Ergebnisse zeigen einen zunehmenden Verzicht von Natriumhypochlorit im Weinbau an. Weiter sind die Verdünnung und verschiedene Eliminationspfade zu berücksichtigen. Die geringen Konzentrationen an Chloroform sind auf Volatilisation zurückzuführen. Dichloressigsäure wurde in Versuchen zum aeroben Abbau-Verhalten innerhalb von 28 Tagen zu 90,9% eliminiert, der Gehalt an Trichloracetaldehyd hatte um 96,4% abgenommen. In den Proben waren 2-Chlor-, 2,4-Dichlorphenylelessigsäure und 2-Chlorbenzoesäure bis zu 71,9 µg/l messbar, bei denen verschiedene andere Quellen als Ursache wahrscheinlich sind.

Die Belastung der Umwelt mit halogenorganischen Verbindungen durch den Weinbau ist relativ gering. Eine weitere Verringerung ist durch einen Wechsel von chlorhaltigen Mitteln zu alternativen Wirkstoffen möglich. Peroxyessigsäure stellt eine Alternative zu Natriumhypochlorit dar. Eine weitere Möglichkeit zur Verringerung der Bildung von AOX ist durch die Entfernung von Precursoren vor Einsatz der Desinfektionsmittel möglich. Falls nicht auf chlorhaltige Desinfektionsmittel verzichtet werden kann, sollte ein Einsatz bei geringer Temperatur stattfinden. Hohe Konzentrationen an Natriumhypochlorit sollten vermieden werden, da schon bei geringen Konzentrationen an Desinfektionsmittel eine gute Wirkung erzielt wird. Die vorliegende Arbeit hat gezeigt, dass die Desinfektion in der Weinbereitung keine akute Gefährdung durch die Entstehung von AOX für die Umwelt darstellt. In Bereichen, in denen ein Kontakt von Desinfektionsmitteln und dem Lebensmittel Wein nicht völlig ausgeschlossen werden kann, sollte allerdings auf die Anwendung Natriumhypochlorit-haltiger Mittel verzichtet werden, um eine Belastung des Weines mit Fehlparfums und gesundheitlich bedenklichen Substanzen zu vermeiden.

## 5 Ausblick

Bei der Herstellung von Wein ist eine gründliche Desinfektion zwingend erforderlich. Eingesetzt werden Desinfektionsmittel mit stark oxidierender Wirkung oder Chlorabspalter. Bei Kontakt dieser Mittel mit organischen Substanzen entstehen Nebenprodukte, die eine Vielzahl bedenklicher Eigenschaften besitzen. Die Problematik der Entstehung von halogenorganischen Verbindungen im Rahmen der Desinfektion mit chlorhaltigen Komponenten und ihre Auswirkungen auf die Umwelt wurde im Rahmen dieser Arbeit dokumentiert, jedoch gibt es im Bereich der Produktion von Lebensmitteln nur wenige Studien, die sich mit der Bildung von nichthalogenierten Nebenprodukten bei Einsatz von Desinfektionsmitteln mit oxidierender Wirkung befassen. Insbesondere die Bildung mutagener und kanzerogener Furanone, die schon in sehr geringer Konzentration eine schädliche Wirkung entfalten können, wurde bisher vernachlässigt. Ebenso gibt es keine Daten über Substanzen, die bei Kontakt von Wirkstoffen der Desinfektion mit in der Weinbereitung eingesetzten Pflanzenschutzmitteln entstehen. Als aktuelles Beispiel sei an dieser Stelle die mögliche Bildung von Nitrosaminen aus Dimethylsulfamid, einem bisher unbekannten Metaboliten des Fungizides Tolyfluanid, unter Einwirkung von Ozon genannt. Die Qualifizierung solcher Verbindungen sowohl in Abwässern, aber auch in Lebensmitteln und Wein ist eine wichtige zukünftige Aufgabe.

Der Wechsel von chlorhaltigen Desinfektionsmitteln zu alternativen Desinfektions-Verfahren ist aus ökologischer Sicht zu befürworten, jedoch sollten die Nachteile anderer Wirkstoffe nicht unberücksichtigt bleiben.

Die Untersuchung von Aromafehlern und einer Wertminderung durch unhalogenierte Desinfektionsmittel bei falscher Handhabung und Kontakt mit Wein war nicht Aufgabe dieser Arbeit, stellt jedoch eine interessante Fragestellung dar.

Bei der Herstellung von Wein fallen verschiedene verwertbare organische Materialien an. Beispiele sind die Gewinnung von Traubenkernöl, Tresterbranntwein, Pellets aus Trester und Rebholz oder die Produktion von Biogas. Es ist zu überlegen, ob aus verschiedenen Abwässern der Weinbereitung Wertstoffe durch geeignete präparative und verfahrenstechnische Verfahren gewonnen werden können. Bei diesen Substanzen könnte es sich z.B. um organische Säuren (Milchsäure, Weinsäure) und Polyphenole handeln.

## 6 Material und Methoden

### 6.1 Untersuchungen zum Summenparameter AOX

Die Bestimmung der AOX erfolgte nach der Schüttelmethode in Anlehnung an die DIN EN 1485 (DEV H 14).

#### 6.1.1 Bestimmungsmethode für AOX

##### Chemikalien:

Aktivkohle:	Partikelgröße < 150 µm (zur AOX-Bestimmung), Merck
p-Chlorphenol:	200 mg Cl/l, Fluka
Natriumnitrat:	Qualität p.a. (≥ 99,5%), Merck
Salpetersäure:	Suprapur <sup>®</sup> (65%), Merck
Sonstige:	Qualität p.a.

##### Geräte:

AOX-Analysator:	ECS 1200, Euroglas
Schüttelmaschine:	Laboshake LS/RO 500, Gerhardt Laboratory Systems
Polycarbonatfilter:	Porengröße 0,45 µm, Abimed
pH-Meter:	CG 804, Schott

##### Gas:

Sauerstoff:	Qualität 3.5
-------------	--------------

##### Durchführung:

Die organischen Wasserinhaltsstoffe aus der salpetersauren Wasserprobe wurden an Aktivkohle adsorbiert. Durch Zusatz von Natriumnitrat zur Wasserprobe und folgende Behandlung der Aktivkohle mit halogenidfreier Natriumnitrat-Lösung wurden die anorganischen Halogenverbindungen von der Kohle verdrängt.

Der Messprozess selbst besteht aus vier Abschnitten:

1. Einführen des Analyten in den Ofen.
2. Verbrennung des Analyten im Ofen, Entstehung von Wasserstoffhalogeniden.

3. Coulometrische Titration der entstandenen Halogenide.
4. Darstellung und Verarbeitung der Daten.

Chloramine und Chloroxide wurden vor der Bestimmung durch die Zugabe von Natriumsulfit entfernt.

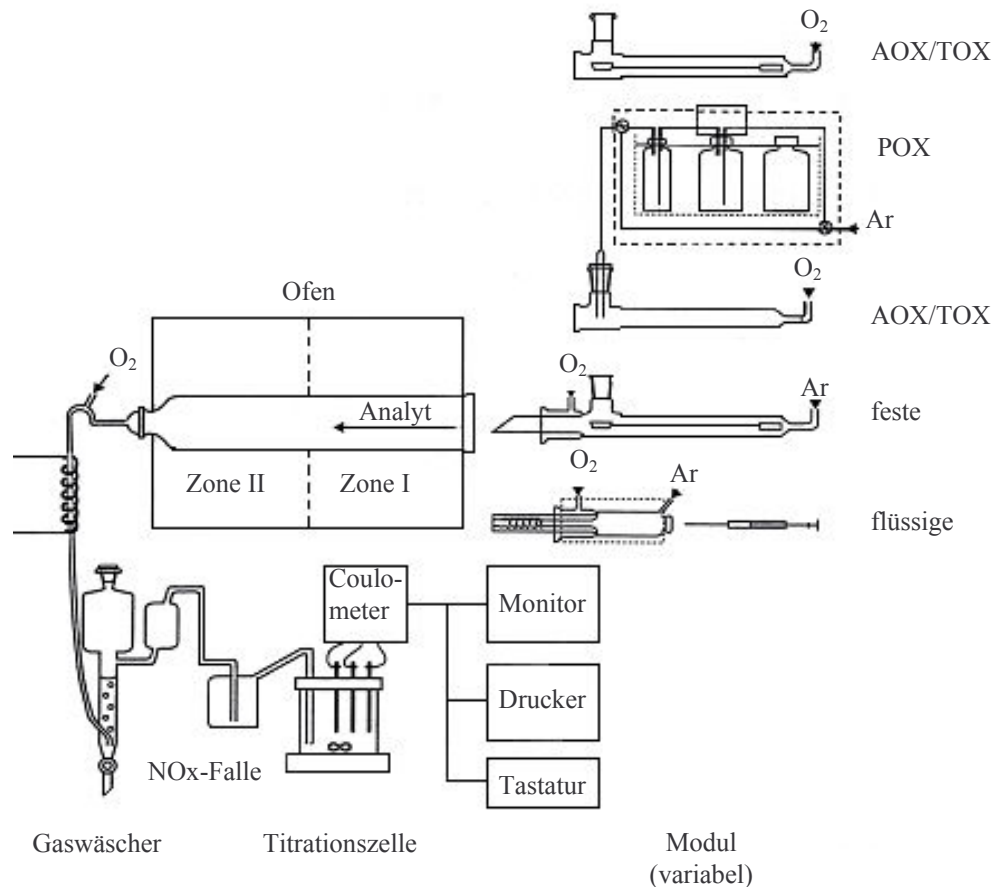


Abb. 38: Schema des ECS 1200

Überprüfung des Gesamtverfahrens:

Vor den Untersuchungen wurden die Titrationzelle und der Elektrolyt (Eisessig) überprüft. Dabei war auf einen nur geringfügig von 0 Ampere abweichenden Stromfluss zu achten. Es wurde eine NaCl-Lösung der Konzentration 0,001 mol/l verwendet, von der 1 µl injiziert wurde.

Es ergaben sich für einen unverbrauchten Elektrolyten Wiederfindungen zwischen 90% und 110%.

Zur Prüfung des Gesamtverfahrens wurden 6 Standardlösungen von p-Chlorphenol mit Konzentrationen an organisch gebundenem Chlor von 10 µg/l, 50 µg/l, 100 µg/l, 200 µg/l und 250 µg/l analysiert.

Die Lösungen wurden aufgearbeitet:

1. Ansäuern mit Salpetersäure auf einen pH-Wert von 2,
2. Zugabe von 5 ml Nitrat-Stammlösung,
3. Einstellung des pH-Wertes auf 2-3,
4. Zugabe von 50 mg Aktivkohle,
5. Schütteln der Suspension für mindestens eine Stunde,
6. Filtration / Auswaschen des Filterkuchens mit Nitrat-Waschlösung,
7. Bestimmung der AOX-Konzentration.

Die Aufarbeitung der Proben erfolgte entsprechend dem oben genannten Verfahrens in Doppelbestimmung nach Abzug der Blindwerte.

### **6.1.2 Bestimmung des Aktivchlor-Gehaltes von Natriumhypochlorit**

Die Bestimmung des exakten Aktivchlor-Gehaltes der verwendeten Natriumhypochlorit-Lösungen erfolgte iodometrisch. Dabei nutzt man die oxidierende Wirkung des Iods und die reduzierende Wirkung des Iodids aus (Jander und Jahr 1989).

#### **Chemikalien:**

Natriumthiosulfat (ReagentPlus<sup>TM</sup>, 99%), Aldrich

Kaliumiodid (p.a., ≥ 99,5%), Iod (≥ 99,5%), Phosphorsäure (p.a., 85%), Merck

Natriumhypochlorit-Lösung (6-13% Aktivchlor), Stärke (p.a.), Riedel-de Haën

#### **Durchführung:**

In einem 300 ml-Erlenmeyerkolben wurden 100 bis 200 mg Kaliumiodid in 30 ml Wasser gelöst. Dann wurden 500 µl der zu prüfenden Lösung zugesetzt. Nach Zugabe von 2 ml 85%-iger Phosphorsäure wurde mit 0,1 N Natriumthiosulfatlösung titriert. Kurz vor dem Umschlagspunkt wurden 0,5 ml Stärke-Lösung zudosiert und bis zur Entfärbung weitertitriert.

**Berechnung:**

Es gilt: 1 ml 0,1 n Natriumthiosulfatlösung = 3,55 mg Cl<sub>2</sub>

bzw. 1 ml 0,1 n Natriumthiosulfatlösung = 3,72 mg NaOCl

Die Natriumthiosulfat-Lösung wurde vor der Bestimmung iodometrisch eingestellt.

**6.1.3 Untersuchungen zum AOX-Bildungspotential**

Die Bildung von AOX bei Einsatz von Natriumhypochlorit und Peroxyessigsäure wurde in Modell-Lösungen untersucht. Dabei handelte es sich einerseits um simulierte Reinigungsvorgänge, zum anderen um die Simulation der AOX-Bildung im Abwassersammeltank und Abwasserkanal.

**Chemikalien:**

Natriumchlorid:	Qualität p.a. (mind. 99,5%), AppliChem
Natriumhypochlorit-Lösung:	(6-13% Aktivchlor), Riedel-de Haën
Natriumsulfit:	≥ 95%, Baker
Peroxyessigsäure:	38-40%, Merck
Hefetrub:	roter Hefetrub, bezogen vom Staatsweingut mit Johannitergut Neustadt/Weinstraße
Most:	roter Most, bezogen vom Staatsweingut mit Johannitergut Neustadt/Weinstraße
Wein:	Portugieser trocken, Mußbacher Eselshaut, Jg. 2002 Riesling Kabinett, Gimmeldinger Meerspinne, Jg. 1999

**6.1.3.1 Natriumhypochlorit****Reinigungsvorgänge:**

Die organische Belastung der in der Weinbereitung anfallenden Abwässer setzt sich im Wesentlichen aus den organischen Komponenten Wein, Most und Hefetrub zusammen. Es wurden in den Modell-Lösungen die normalerweise im Abwasser vorkommenden Konzentrationen erhöht. Für Rotwein-, Weißwein- und Most-Lösungen wurden die Konzentrationen 4%, 10% und 20% gewählt, die Konzentrationen für Hefetrub-Lösungen betrugen 1% und 8%. Der Konzentrationsbereich von Natriumhypochlorit wurde in

Orientierung an handelsüblichen aktivchlorhaltigen Reinigern, die in der Weinbereitung erhältlich sind, zwischen 0,365 g/l und 14,6 g/l gewählt. Die Versuche wurden bei den Reaktionstemperaturen 4°C - zur Simulation der Kellertemperatur - und 30°C - zur Simulation einer Reinigung mit warmem Wasser - durchgeführt. Die Reaktionszeit betrug 45 Minuten. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Natriumsulfit in 1,5-fachem molaren Überschuss gegenüber der Natriumhypochlorit-Konzentration abgebrochen.

#### **Abwassersammeltank, Abwasserkanal:**

Zur Simulation der Bildung von AOX bei Einsatz von Natriumhypochlorit im Abwassersammeltank und Abwasserkanal wurden im Gegensatz zur Simulation der Reinigungsvorgänge niedrigere Konzentrationen der organischen Komponenten gewählt. In diesen Versuchen wurden für die Modell-Lösungen mit Konzentrationen an Rotwein, Weißwein und Most von 1%, 3% und 5% und Hefetrub von 0,1%, 1% und 2% angesetzt. Der Konzentrationsbereich des Natriumhypochlorits wurde verringert und lag zwischen 0,0365 g/l und 0,365 g/l. Die Reaktionen wurden nach 24 Stunden durch Zugabe von Natriumsulfit in 1,5-fachem molaren Überschuss beendet. Die Reaktionstemperatur betrug 20°C.

### **6.1.3.2 Peroxyessigsäure**

#### **Versuche mit Peroxyessigsäure und Natriumchlorid:**

Die Bildung von AOX in Modell-Lösungen mit Natriumchlorid und Peroxyessigsäure wurde bei verschiedenen Reaktionszeiten und Reaktionstemperaturen untersucht. Weitere organische Komponenten waren nicht anwesend.

Die Konzentrationen an Natriumchlorid in den Lösungen betrugen 0 g/l, 0,1 g/l, 0,2 g/l, 0,5 g/l, 1 g/l und 2 g/l, Peroxyessigsäure wurde in Konzentrationen von 0,3648 g/l bis 10,944 g/l eingesetzt. Die Reaktionszeit war 5 Minuten bei Umsetzung in der Siedehitze, 45 Minuten bei den Temperaturen 4°C und 30°C und 24 Stunden bei Reaktionstemperaturen von 20°C und 30°C.

#### **Simulation von Reinigungsvorgängen:**

Es wurden Reinigungsvorgänge zur Simulation der Bildung von AOX bei Einsatz von Peroxyessigsäure in Modell-Lösungen Rotwein, Weißwein, Most (Konzentrationen 4%, 10% und 20%) und Hefetrub (1%, 8%) dargestellt. Natriumchlorid wurde in einer Konzentration bis zu 1 g/l zugegeben und die Lösungen mit Peroxyessigsäure in Konzentrationen zwischen



0,228 g/l und 3,42 g/l behandelt, die bei Reinigungsvorgängen üblicherweise verwendet werden. Als Reaktionstemperaturen wurden 4°C (Kellertemperatur) und 30°C (Warmwasserreinigung) gewählt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Natriumsulfit in molarem Verhältnis 1:1 nach 45 Minuten abgebrochen.

### 6.1.4 Fraktionierung von AOX

#### Chemikalien:

Amberlite XAD-7 (20-50 mesh), Amberlite IRA-67 (freebase, 35-150 mesh), Fluka

Natriumhydroxid (p.a.,  $\geq 99\%$ ), Salpetersäure (Suprapur<sup>®</sup>, 65%), Merck

Natriumhydrogencarbonat (p.a.,  $\geq 99,7\%$ ), Riedel-de Haën

Methanol (CHROMASOLV<sup>®</sup> Plus,  $\geq 99,9\%$ ), Sigma-Aldrich

#### Geräte:

Extraktion: Soxhlet-Apparatur mit Heizplatte HC 61, Gerhardt

Rotationsverdampfer: Vacuumbrand PC101

#### Durchführung:

Konditionierung der Adsorberharze:

Das XAD-7-Harz wurde mehrmals mit Methanol aufgeschlämmt und abdekantiert, danach wurde der Vorgang mit 1 molarer Natronlauge wiederholt, bis die überstehende Lösung klar war. Danach wurde das Harz in einer Soxhlet-Apparatur mit Methanol, Acetonitril und Diethylether über einen Zeitraum von jeweils acht Stunden extrahiert. Die Aufbewahrung des gereinigten Harzes erfolgte unter Methanol.

Die Aufarbeitung des Anionentauschers erfolgte analog der Aufarbeitung von XAD-7 durch Extraktion in einer Soxhlet-Apparatur mit Methanol, Acetonitril und Diethylether für acht Stunden, die Aufbewahrung erfolgte unter Wasser. Vor Aufgabe des Perkolates der XAD-7-Extraktion musste der Anionenaustauscher mit 10 Säulenvolumina (SV) 1 molarer Salpetersäure, 5 SV destilliertem Wasser und 5 SV 3 molarer Ammoniak-Lösung konditioniert werden, anschließend wurde mit destilliertem Wasser neutral gewaschen.

Durchführung des AOX-Trennungsganges:

Die Fraktionierung von AOX wurde in Anlehnung an Methoden von Fokuhl (1999) und Gremm und Frimmel (2000) durchgeführt.

Es wurden 100 ml der salpetersauren Probe ( $\text{pH} = 2$ ) auf die XAD-7-Säule gegeben (Fließgeschwindigkeit 10 SV/h). Weitere 100 ml der Probe wurden zur Bestimmung des Gesamt-AOX-Gehaltes der Probe der coulometrischen Bestimmung zugeführt.

Das Filtrat der ersten Säule wurde mit einer Fließgeschwindigkeit von 8 SV/h drucklos auf die Säule mit dem Anionenaustauscher gegeben. Zur Desorption der Verbindungen wurden nacheinander 120 ml 0,1 molare Natronlauge und 60 ml Methanol (Fließgeschwindigkeit 3 SV/h) auf die XAD-7-Säule gegeben. Die AOX auf der IRA-67-Säule wurden in zwei Schritten mit 400 ml 1 M Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 400 ml 1 M Natronlauge eluiert (Fließgeschwindigkeit 3 SV/h). Anschließend wurde die Methanolfraktion am Rotationsverdampfer eingeeengt und in destilliertem Wasser aufgenommen.

Alle erhaltenen Fraktionen wurden zur Bestimmung des AOX-Gehaltes mit Salpetersäure auf einen pH-Wert von 2 eingestellt.

## 6.2 Quali- und Quantifizierung von Nebenprodukten der Desinfektion

### Chemikalien:

Lösungsmittel:

Acetonitril (R CHROMASOLV<sup>®</sup>,  $\geq 99,8\%$ ), Diethylether (purum,  $\geq 99,0\%$ ), Fluka

Ethylacetat (p.a.,  $\geq 99,5\%$ ), n-Hexan (p.a.,  $\geq 99,0\%$ ), Pyridin (p.a.,  $\geq 99,5\%$ ), Toluol (purum,  $\geq 99,0\%$ ), Merck

Aceton (CHROMASOLV<sup>®</sup>,  $\geq 99,8\%$ ), tert.-Butylmethylether (purum,  $\geq 98,0\%$ ), Methanol (CHROMASOLV<sup>®</sup> Plus,  $\geq 99,9\%$ ), Sigma-Aldrich

Referenzsubstanzen:

4-Chlorbenzaldehyd ( $\geq 97\%$ ), Chloroform ( $> 99\%$ ), 2-Chlorphenylelessigsäure ( $\geq 99\%$ ), 2,4-Dichloranisol ( $\geq 97\%$ ), 2,4-Dichlorbenzoesäure ( $\geq 98\%$ ), 4,5-Dichlorphthalsäure ( $\geq 99\%$ ), 2,3-Dichlor-1-propen, ( $\geq 98\%$ ), Aldrich

2-Chlorbenzoesäure (purum,  $\geq 98\%$ ), 4-Chlorbenzylcyanid (purum,  $\geq 98\%$ ), 2,4-Dichlorphenylelessigsäure (purum,  $\geq 98\%$ ), Trichloracetaldehyd (purum,  $\geq 97\%$ ), Fluka

2-Chloranilin (PESTANAL<sup>®</sup>,  $\geq 99,7\%$ ), 2,4-Dichlortoluol (OEKANAL<sup>®</sup>,  $\geq 99,5\%$ ), 2,4,6-Trichloranisol (PESTANAL<sup>®</sup>,  $\geq 99,5\%$ ), Riedel-de Hën

Dibromessigsäure ( $\geq 99\%$ ), Supelco

Chlorphenole: 2-Chlorphenol, 2,4-Dichlorphenol, 2,4-Dimethylphenol, 2-Nitrophenol, Phenol 500  $\mu\text{g/ml}$ , 2,4-Dinitrophenol, 2,4,6-Trichlorphenol 1500  $\mu\text{g/ml}$ , 4-Chlor-3-methylphenol, 2-Methyl-4,6-dinitrophenol, Pentachlorphenol, 4-Nitrophenol 2500  $\mu\text{g/ml}$  in Methanol, Supelco

Halogenierte Essigsäuren: Bromessigsäure, Bromchloressigsäure, Chloressigsäure, Dibromessigsäure, Dichloressigsäure, Trichloressigsäure 2000  $\mu\text{g/ml}$  in tert.-Butylmethylether, Supelco

Halogenierte Acetonitrile, Ketone:

Bromchloracetonitril, Chlorpikrin, Dibromacetonitril, Trichloracetonitril, 1,1-Dichlor-2-propanon, Trichloracetonitril, 1,1,1-Trichlorpropanon, Dichloracetonitril 2000  $\mu\text{g/ml}$  in Aceton, Supelco

Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe:

Trifluormethan, 1,1-Dichlorethen, Dichlormethan, 2-Chlorethylvinylether, 1,1-Dichlorethan, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Trichlorethen, 1,2-Dichlorpropan, 1,1,2-Trichlorethan, Tetrachlorethen, Dibromchlormethan, Chlorbenzol, 1,2-Dichlorbenzol 2000  $\mu\text{g/ml}$  in Methanol, Supelco

Sonstige Chemikalien:

Benzylcyanid ( $> 99\%$ ), 5-Chlorindol ( $\geq 98\%$ ), Phenylacetaldehyd ( $> 90\%$ ), Aldrich

Natriumchlorid (p.a., mind. 99,5%), AppliChem

Natriumsulfit ( $\geq 95\%$ ), Baker

Bortrifluorid ( $\sim 10\%$  /  $\sim 1,3\text{ M}$  in Methanol), Dichloressigsäure (puriss.,  $\geq 98,5\%$ ),

Trimethylsulfonium-Hydroxid (TMSH) ( $\sim 0,25\text{ M}$  in Methanol), Fluka

L-Alanin, L-Glutaminsäure, L-Leucin, L-Phenylalanin, L-Prolin, L-Tryptophan, L-Tyrosin ( $\geq 99\%$ ), L-Ascorbinsäure (p.a.,  $\geq 99,7\%$ ), Butylchlorformiat (p.a.,  $\sim 95\%$ ), Natriumsulfat (p.a.,  $\geq 99\%$ ), Salpetersäure (Suprapur<sup>®</sup>, 65%), Schwefelsäure (p.a., 95-97%), Merck

Natriumhydrogencarbonat (p.a.,  $\geq 99,7\%$ ), Riedel-de Haën

SPME: Carboxen-/Polydimethylsiloxan-Faser,  $d_f = 75\text{ }\mu\text{m}$ , Supelco

SPE: Strata<sup>TM</sup> C8 trifunktional, Phenomenex

Strata™ X, Phenomenex  
Chromabond® C18 (endcapped), Macherey Nagel  
Bakerbond™ Phenyl, Baker  
Gas: Stickstoff 5.0

**Geräte:**

GC-MS-System: Finnigan Mat GCQ Ion-Trap-GC-MS-System, Axel Semrau

Autosampler: A 200 SE, CTC Analytics

„Purge-and-Trap“-Apparatur: Concentrator Tekmar® 3000

Die Bedingungen der GC-MS-Messungen sind den folgenden Kapiteln zu entnehmen. Soweit nicht anders angegeben, wurde unter nachstehenden Bedingungen gearbeitet:

**Gaschromatograph:**

Trägergas: Helium 4.6

Fließgeschwindigkeit: 40 cm/s

**MS-System:**

Transferline: 250°C

Ionvolume: 180°C (EI) bzw. 130°C (CI)

CI-Gase: Methan 4.5, Methanol, Wasser

Software: Xcalibur Version 1.0, Thermo

Wasserbad : Inkubations-/Inaktivierungsbad GFL 1004

Ultraschallbad : Transsonic 460/H, Elma-Ultrasonic

Für die Identifizierung einzelner halogener Nebenprodukte der Desinfektion bei der Weinbereitung sind Methoden erforderlich, die eine Abtrennung der Analyten von der Probenmatrix, eine ausreichende Anreicherung, hohe Selektivität und eine gute Detektion der Verbindungen ermöglichen.

Ein geeignetes analytisches Instrument für die Untersuchung von Nebenprodukten der Desinfektion stellt die Gaschromatographie in Kombination mit massenselektiven Detektoren

dar, die Aussagen über die Struktur und funktionellen Gruppen einzelner Verbindungen ermöglicht.

Bei dem in den durchgeführten Bestimmungen eingesetzten Analysator handelte es sich um eine Quadrupol-Ionenfalle („ion-trap“ / Abb. 39). Diese funktioniert im Prinzip als Ringelektrode mit variabler Hochfrequenzspannung und einer zusätzlich geerdeten Abschirmelektrode, in der die gasförmigen Ionen durch elektrische und/oder magnetische Felder eingeschlossen werden. Die Analyt-Ionen zirkulieren entsprechend ihrer Massen- und Ladungszahlen in bestimmten Umlaufbahnen. Dabei bewirkt eine stetige Erhöhung der Hochfrequenzspannung eine Destabilisierung der Umlaufbahnen, bis diese schließlich die Ionenfalle in Richtung Detektor verlassen. Das Verfahren ermöglicht die selektive Isolierung einzelner Ionen.

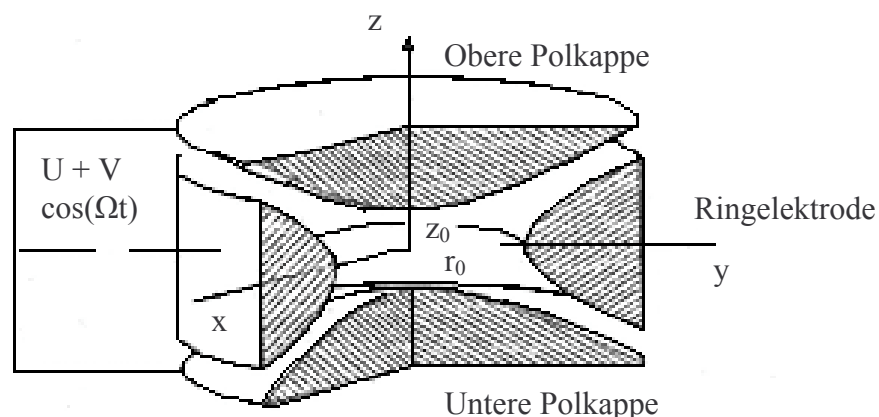


Abb. 39: Schema der Ion-Trap

Das Fragmentierungsverhalten der Verbindungen lässt Rückschlüsse auf Strukturen und funktionelle Gruppen zu. Ein weiterer Vorteil, der vor allem für AOX von Bedeutung ist, sind die charakteristischen Verteilungsmuster von isotopen Elementen (Isotope  $^{35}\text{Chlor}/^{37}\text{Chlor}$  / Verhältnis 75,8%:24,2%, des Weiteren  $^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$  / Verhältnis 50,7%:49,3%).

Die Identifizierung der AOX erfolgte über die Retentionszeiten und die im EI- und CI-Modus aufgenommenen Massenspektren der Desinfektions-Nebenprodukte und entsprechenden Referenzsubstanzen.

#### Chemische Ionisation:

Bei der Chemischen Ionisation handelt es sich um eine weiche Ionisierungstechnik, die unter Vermittlung eines Reaktand-Gases und dessen Reaktand-Ionen in Form einer exothermen

chemischen Reaktion in der Gasphase unter Bildung stabiler positiver oder negativer Ionen abläuft. Bei der Chemischen Ionisation wird weniger Energie zur Ionisierung benötigt. Es entstehen wenige bzw. keine Massenfragmente, sondern Molekül-Ionen, die Informationen über die Gesamtmassen der untersuchten Substanzen zulassen.

Durch Elektronenbeschuss wird aus dem eingeleiteten Reaktand-Gas ein stabiler Cluster von Reaktand-Ionen erzeugt. Danach folgt die Umsetzung der Probenmoleküle mit den Ionen des Reaktand-Gas-Clusters. Die Reaktionsprodukte werden erfasst und im CI-Spektrum abgebildet. Als protonierende Reaktand-Gase wurden Methan, Methanol und Wasser eingesetzt.

Bei Methan handelt es sich um ein „hartes“ Reaktand-Gas. Durch das Methan-Cluster bilden sich insbesondere die Addukt-Ionen  $(M+CH_5)^+$ ,  $(M+C_2H_5)^+$  und  $(M+C_3H_5)^+$ , die eine gute Absicherung der Molmassen-Interpretation ermöglichen.

Methanol ist aufgrund seines niedrigen Dampfdruckes ein sehr gut geeigneter Reaktand für die Chemische Ionisation bei Ion-Trap-Geräten. Der Einsatzbereich des Methanols ist typischerweise die Protonierung. Durch die mittlere Protonenaffinität des Methanols werden Spektren erzeugt, die insbesondere bei der Identifizierung der Molekülmasse hilfreich sind. Wichtigste Addukt-Ionen sind  $(M+CH_3OH+H)^+$  und das durch Dimethylether-Dimere entstehende  $(M+CH_3OCH_3)^+$ .

Der Vorteil von Wasser als Reaktand-Gas liegt vor allem in einem Responsegewinn, der aus der hohen Umsetzungsrate in  $H_3O^+$ -Ionen und geringen Protonenaffinität folgt. Die Einstellung von Wasser wird auf eine möglichst hohe Intensität der  $H_3O^+$ -Ionen vorgenommen. Entstehende Spektren sind meist arm an Fragmenten und konzentrieren den Ionenstrom auf ein dominantes Ion. Der Einsatz von Wasser ist bei Messungen im CI-Modus, die niedrige Scanbereiche erfordern, empfehlenswert und für die im Rahmen der Desinfektion mit Natriumhypochlorit entstehenden Verbindungen günstig.

#### MS/MS-Technik:

Die MS/MS-Technik bietet Vorteile bei der Untersuchung von Proben, bei denen die Matrix stark zum chemischen Rauschen beiträgt, eine Koelution mit Verunreinigungen auftritt, die Struktur der Verbindungen unbekannt ist oder die Quantifizierung mit höchster Empfindlichkeit in schwierigen Matrices erforderlich ist.

Bei der MS/MS-Technik werden nach der ersten Ionisation einzelne Fragmente mit bestimmten  $m/z$ -Werten selektiert. Anschließend werden die ausgewählten Ionen durch energiereiche Stöße zu Tochter-Ionen fragmentiert. Durch Auftrennung oder Neuorientierung

von Bindungen und Abspaltung von Neutralteilchen entstehen substanzspezifische Fragmentierungen und Tochter-Ionen mit niedrigeren  $m/z$ -Werten. Die Massenanalyse der Tochter-Ionen macht eine zweite massenspektrometrische Auftrennung und anschließende Detektion notwendig.

### 6.2.1 Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe

Die Identifizierung leichtflüchtiger halogener Kohlenwasserstoffe wurde mittels „Headspace“- und „Purge-and-Trap“-Technik durchgeführt.

#### 6.2.1.1 „Headspace“-Methodik

Zur Bestimmung der LHKW wurde ein Referenzmix mit 14 Verbindungen verwendet.

Es wurde ein Aliquot aus geschlossenen Vials für die Headspace-Analytik entnommen (20 ml Probe in 100 ml-Gefäßen), dessen Temperatur für 60 Minuten bei einer Temperatur von 70°C stabil gehalten wurde. Die chromatographische Analyse wurde nach Tab. 25 durchgeführt. Bei den verwendeten Reagenzien musste insbesondere darauf geachtet werden, Kontaminationen, z.B. durch die Laborluft, zu verhindern.

Tab. 25: GC-MS-Methode – LHKW / „Headspace“-Technik

Säule	Kapillarsäule ZB-624 (6%- Cyanopropylphenyl-94%- Dimethylpolysiloxan), Phenomenex (30 m x 0,25 mm i.D.; Filmdicke: 1,4 µm)		
Injektionstemperatur	220°C		
Injektionsvolumen	200 µl Gasphase, splitlos		
Ofenprogramm	Ofentemperatur [°C]	Isotherme Zeit [min]	Heizrate [°C/min]
	40	0	2
	60	0	6
	120	0	12
	240	0	20
	260	4	
Modus	Full-Scan 50-500 (0,25 Sekunden pro Scan)		

Die Verbindung Chloroform hatte eine Retentionszeit von 6,1 min ( $m/z = 118$  ( $M^+$ ), 83 (Abspaltung Chlor)) bei entsprechendem Isotopenverteilungsmuster, die Verbindung Tetrachlorkohlenstoff eine Retentionszeit von 6,6 min ( $m/z = 153$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>, 117 (Abspaltung Chlor), 82 (Abspaltung Chlor)). Das Massenspektrum der Verbindung Tetrachlorethen zeigte die charakteristischen Massen  $m/z = 164$  ( $M^+$ ), 131 und 94 (Retentionszeit  $R_t = 13,85$  min). Retentionszeiten und Massen der weiteren Verbindungen sind Tab. 11 zu entnehmen.

Für die quantitative Bestimmung wurden Stamm- und Bezugslösungen angesetzt:

- 1) In einen 100 ml-Messkolben, der 90 ml Lösungsvermittler (Mischung aus 80 Volumenanteilen Wasser und 10 Volumenanteilen Methanol) enthielt, wurden 680  $\mu$ l eines Chloroform-Standards ( $\delta = 1,47$  g/cm<sup>3</sup>) unter die Lösungsmitteloberfläche gespritzt. Danach wurde mit dem Lösungsvermittler bis zur Marke aufgefüllt. Der Kolben wurde mit einem Glasschliffstopfen verschlossen und die Lösung vorsichtig geschüttelt. Die Konzentration der Verbindung Chloroform in dieser Lösung betrug 10 g/l.
- 2) In einen 100 ml-Messkolben, der 90 ml Lösungsvermittler enthielt, wurden 100  $\mu$ l des Referenzmixes unter die Lösungsmitteloberfläche gespritzt. Nach Auffüllen mit dem Lösungsvermittler bis zur Marke wurde der Kolben verschlossen und die Lösung vorsichtig geschüttelt. Die Konzentration der Verbindungen Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff und Tetrachlorethen in dieser Lösung betrug 2 mg/l.

Aus diesen Stammlösungen wurden durch Verdünnungen Bezugslösungen in einem geeigneten Konzentrationsbereich angesetzt und gemessen.

Die Quantifizierung der Verbindungen erfolgte im SIM-Modus über die charakteristischen Massen  $m/z = 118,83$  (Chloroform) und  $m/z = 117,82$  (Tetrachlorkohlenstoff).

Die Bestimmung der Konzentrationen in den Proben erfolgte über die erhaltenen Bezugsfunktionen unter Berücksichtigung der Messempfindlichkeiten bei der jeweiligen Probensequenz, die durch entsprechende Standards ermittelt wurde.

### 6.2.1.2 „Purge-and-Trap“-Methodik

Bei der „Purge-and-Trap“-Technik handelt es sich um eine Methode zur empfindlichen Bestimmung von leicht- und mittelflüchtigen Komponenten aus festen und flüssigen Proben.

Im Gegensatz zur statischen Headspace wird bei der „Purge-and-Trap“-Methode das Gleichgewicht zwischen flüssiger und gasförmiger Phase ständig gestört, indem die Probe mit



einem Gasstrom durchspült wird. Der Gasstrom treibt die flüchtigen Komponenten aus der Probe auf eine Adsorberfalle („Trap“). Anschließend wird die Adsorberfalle erhitzt und die einzelnen Komponenten in den Gaschromatographen geleitet. Es resultiert eine Erhöhung der Empfindlichkeit um den Faktor 100-1000.

Zur Untersuchung der Proben wurden 4 ml eingesetzt.

Für die gaschromatographische Trennung wurde die Temperatur des Injektors im Gegensatz zur „Headspace“-Methodik auf 200°C verringert, die Temperatur der Säule wurde zu Messbeginn für 4 Minuten bei 40°C gehalten, anschließend wurde bei einer Heizrate von 6°C/min auf 200°C erhitzt und für 4 Minuten konstant gehalten. Die anderen Messbedingungen entsprachen denen der „Headspace“-Methodik.

Tab. 26: Probenaufgabe mittels „Purge and Trap“-Technik

Parameter	Vorgabe
Temperatur der Ventile / Transferline zum GC	130°C
Probenhalter	40°C
"Purge"-Temperatur	30°C
Proben-Erhitzer	Off (LHKW) / On (Anisole)
"Purge"-Beginn	0 min (LHKW) / 0,66 min (Anisole)
Vorerwärmung der Probe	0 min (LHKW) / 0,8 min (Anisole)
Temperatur der Probe	40°C (LHKW) / 50°C (Anisole)
"Purge"-Zeit	11 min
Start des GC	Start der Desorption
Kühlfalle	Off
Erwärmung "Trap" vor Desorption	175°C
Desorptionszeit	4 min
Desorptionstemperatur	180°C
Regenerationszeit "Trap"	10 min
Regenerationstemperatur "Trap"	225°C
Entfernung von Wasser aus der "Trap"	240°C
Druckausgleich vor Regeneration	2 min

Die Änderung der gaschromatographischen Bedingungen und Probenaufgabe hatte eine Verschiebung der Retentionszeiten zur Folge, während die Fragmentierungsmuster mit denen der „Headspace“-Methodik identisch waren ( $R_t$  (Chloroform) = 8,0 min,  $R_t$  (Tetrachlorkohlenstoff) = 8,3 min,  $R_t$  (Tetrachlorethen) = 12,5 min).

## 6.2.2 Halogenierte Essigsäuren

Die Bestimmung halogener Essigsäuren erfolgte gaschromatographisch-massenspektrometrisch nach Anreicherung und Derivatisierung zu Methylestern.

### 6.2.2.1 Bestimmungsmethode für Simulationsversuche

Aufarbeitung der Proben:

10 ml der Probe wurden mit Schwefelsäure auf einen pH-Wert < 1 eingestellt und mit TBME extrahiert (10 ml + 5 ml + 5 ml). Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet. 100 µl dieser Lösung wurden mit 50 µl Derivatisierungs-Reagenz versetzt (0,25 M TMSH). Die Reaktion wurde für 10 Minuten bei 70°C durchgeführt. Anschließend erfolgte die GC-MS-Analyse.

Tab. 27: GC-MS-Methode – Halogenierte Essigsäuren (als Methylester)

Säule	Kapillarsäule ZB-624 (6%- Cyanopropylphenyl-94%- Dimethylpolysiloxan), Phenomenex (30 m x 0,25 mm i.D.; Filmdicke: 1,4 µm)		
Injektionstemperatur	260°C		
Injektionsvolumen	1 µl, splitlos		
Ofenprogramm	Ofentemperatur [°C]	Isotherme Zeit [min]	Heizrate [°C/min]
	50	1	5
	160	5	
Modus	Full-Scan 50-500 (0,25 Sekunden pro Scan)		

Für die qualitative Bestimmung der halogenierten Essigsäuren wurde ein Referenzmix aus 6 Säuren verwendet. Nach der Aufarbeitung und Derivatisierung der gelang die Trennung von Chloressigsäure, Bromessigsäure, Dichloressigsäure, Trichloressigsäure, Bromchloressigsäure und Dibromessigsäure unter den in Tab. 27 angegebenen Bedingungen.

Dichloressigsäure hatte eine Retentionszeit von 11,6 min ( $m/z = 127$  (Abspaltung der Methyl-Gruppe von  $M^+ = 142$ ), 111 (Abspaltung der Methoxy-Funktion), 83 (Abspaltung  $\text{CO}_2\text{CH}_3^+$ )).

Retentionszeiten und Massenfragmente aller untersuchten HAA sind Tab. 13 zu entnehmen.

Für die quantitative Bestimmung der Dichloressigsäure wurden die Proben aufgearbeitet und im SIM-Modus über die charakteristischen Massenfragmente  $m/z = 127/111/83$  vermessen.

Als Bezugslösungen wurden Dichloressigsäure-Lösungen in einem Konzentrationsbereich von 0 bis 100 mg/l hergestellt und entsprechend den Proben aufgearbeitet.

Die Bestimmung der Konzentrationen erfolgte über die erhaltenen Bezugsfunktionen unter Berücksichtigung der Messempfindlichkeiten bei der jeweiligen Probensequenz, die durch entsprechende Standards ermittelt wurde.

#### 6.2.2.2 Proben aus Kläranlagen und aerobe Abbau-Versuche

Für die Untersuchungen der Proben aus Kläranlagen und zum aeroben Abbau-Verhalten von Dichloressigsäure war eine höhere Anreicherung notwendig. Das Aufarbeitungsschema ist in Abb. 40 wiedergegeben.

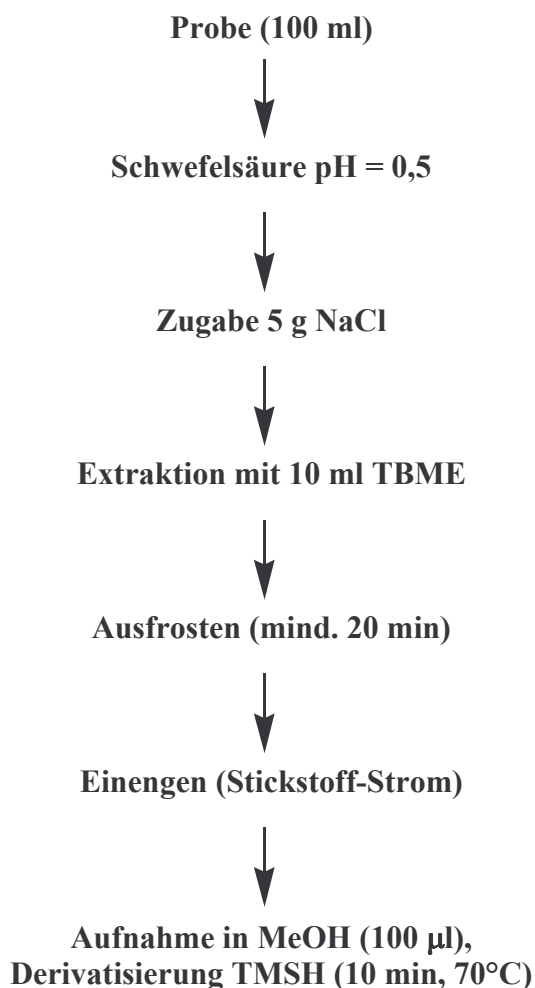


Abb. 40: Aufarbeitungsschema für halogenierte Essigsäuren (in Anlehnung an Knepper et al. 1999).

Die anschließende Messung erfolgte nach Kap. 6.2.2.1.

### 6.2.3 Halogenierte Aldehyde, Ketone, Chlorpikrin, Acetonitrile

Die Untersuchung dieser Gruppe der Desinfektions-Nebenprodukte wurde im EI- und CI-Modus durchgeführt.

#### 6.2.3.1 Bestimmungsmethode für Simulationsversuche

Für die qualitative Untersuchung wurden 20 ml der Proben mit 20 ml TBME (10 ml + 5 ml + 5 ml) extrahiert und 1 Mikroliter der vereinigten Extrakte injiziert. Es gelang unter den in Tab. 28 genannten Bedingungen eine gute Trennung der Referenzsubstanzen.

Tab. 28: GC-MS-Bedingungen – Bestimmung halogener Acetonitrile

Säule	Kapillarsäule ZB-5 (5%- Diphenylpolysiloxan-95%-Dimethylpolysiloxan), Phenomenex (30 m x 0,25 mm i.D.; Filmdicke: 0,25 µm)		
Injektionstemperatur	200°C		
Injektionsvolumen	1 µl, splitlos		
Ofenprogramm	Ofentemperatur [°C]	Isotherme Zeit [min]	Heizrate [°C/min]
	35	22	10
	145	2	20
	225	15	
Modus	Full-Scan 50-300 (0,25 Sekunden pro Scan)		

Trichloracetaldehyd besaß eine Retentionszeit von 4,5 Minuten ( $m/z = 117$  (Abspaltung der Aldehyd-Funktion), 111 bzw. 110 (Abspaltung Chlor bzw. HCl), 82 (Abspaltung Chlor vom Fragment  $m/z = 117$ )), Dichloracetonitril eine Retentionszeit von 4,7 min ( $m/z = 108$  (Abspaltung Wasserstoff), 82 (Zerstörung der Bindung zwischen chloriertem Kohlenstoffatom und Nitril-Gruppe), 74 (Abspaltung Chlor)).

Trichloracetonitril hatte eine kürzere Retentionszeit als Dichloracetonitril. Dieses erklärt sich durch die acide Wirkung des Wasserstoffs im Dichloracetonitril im Vergleich zur günstigeren Elektronenkonfiguration im Trichloracetonitril. Beim Dichloracetonitril ist mit stärkeren Wechselwirkungen mit der stationären Polysiloxan-Phase zu rechnen, was sich in einer längeren Retentionszeit zeigte.

Für 1,1,1-Trichlorpropanon (Retentionszeit  $R_t = 11,3$  Minuten) waren die Fragmente  $m/z = 125$  (Abspaltung Chlor), 117 (Abspaltung  $\text{COCH}_3^+$ ), 97 (Abspaltung  $\text{C}_2\text{Cl}_2\text{H}_3^+$ ), 83 (Abspaltung der  $\text{COCH}_3$ -Gruppe von  $m/z = 125$ , Umlagerung eines Wasserstoffprotons) und 82 ( $\text{CCl}_2^+$ -Fragment) charakteristisch. Chlorpikrin ließ sich nach einer Retentionszeit  $R_t = 7,1$  min identifizieren ( $m/z = 117$  (Abspaltung Nitro-Gruppe), 93 (Abspaltung von zwei Chlor-Ionen), 82 (Abspaltung Chlor von  $m/z = 117$ )). Retentionszeiten und Massenfragmente weiterer Verbindungen sind Tab. 14 zu entnehmen.

Bei den Messungen, in denen mit Methan chemisch ionisiert wurde, war im Massenspektrum von Dichloracetonitril ( $R_t = 4,67$  min) das Molekül-Ion  $(\text{M}+\text{H})^+ = 110$  zu sehen. Für die Identifizierung der Substanz war vor allem das Fragment  $m/z = 83$  (durch Abspaltung der Nitril-Gruppe / acider Wasserstoff ist im Gegensatz zum EI-Modus noch nicht abgespalten) charakteristisch. Im Massenspektrum von 1,1,1-Trichlorpropanon trat nach chemischer Ionisation das Molekül-Ion der Masse  $(\text{M}+\text{H})^+ = 161$  auf. Das Massenspektrum von Chlorpikrin unterschied sich nur unwesentlich von den im EI-Modus aufgenommenen Spektren. Das Molekül-Ion  $(\text{M}+\text{H})^+ = 164$  von Chlorpikrin war auch bei chemischer Ionisation mit Methan nicht zu erkennen, das Auftreten des Fragmentes  $m/z = 83$  (im Gegensatz zum Fragment  $m/z = 82$  im EI-Modus) erklärt sich durch die Abspaltung der Nitrogruppe und eines Chlor-Ions vom entsprechenden Molekül-Ion (Tab. 29).

Tab. 29: Retentionszeiten und Massenfragmente von halogenierten Aldehyden, Ketonen, Acetonitrilen und Chlorpikrin (CI-Modus / Methan)

Verbindung	Retentionszeit $R_t$ [min]	$m/z$
Trichloracetonitril	3,7	<b>144</b> /117/108
Dichloracetonitril	4,7	<b>110</b> /83/74
1,1-Dichlor-2-propanon	5,1	<b>127</b> /91/63
Chlorpikrin	7,1	117/93/83
Bromchloracetonitril	9,4	<b>154</b> /127/74
1,1,1-Trichlorpropanon	11,3	<b>161</b> /125/97/83
Dibromacetonitril	21,1	<b>198</b> /171/118

Die Identifizierung von Trichloracetaldehyd konnte durch Messungen im CI-Modus mit Methanol als Reaktand-Gas abgesichert werden. Charakteristisch waren dabei die Massen  $m/z = 117$  (Abspaltung Aldehyd-Fragment) und 83 (Fragment  $\text{CCl}_2\text{H}^+$ ). Im Gegensatz zu den Messungen im EI-Modus traten die Fragmente  $m/z = 111$  und 82 nicht auf. Für 1,1,1-

Trichlorpropanon waren die Massen  $m/z = 161(\text{M}+\text{H})^+$ , 117 (Abspaltung  $\text{COCH}_3^+$ ) und 83 ( $\text{CCl}_2\text{H}^+$ ) charakteristisch, während die Fragmente  $m/z = 125$ , 97 und 61 nicht auftraten. Chlorpikrin bildete im CI-Modus die Fragmente  $m/z = 117$  und 83. Das Fragment  $m/z = 65$  erklärt sich durch die Abspaltung von  $\text{NOCl}$ , das nach Abspaltung von Chlor durch eine intramolekulare Ringbildung zwischen Kohlenstoff, Stickstoff und einem Sauerstoffatom, anschließender Ausbildung einer N-Cl-Bindung und Bruch des Fragmentes  $m/z = 128$  entsteht (Bestätigung durch  $m/z = 63 (\text{ClCO}^+)$ ). Für Dichloracetonitril war bei den Messungen im CI-Modus das Auftreten des Signals  $m/z = 83 (\text{HCCl}_2^+ \text{-Fragment})$  charakteristisch.

Für die quantitative Bestimmung von Trichloracetaldehyd, Dichloracetonitril, 1,1,1-Trichlorpropanon und Chlorpikrin wurden Bezugslösungen in einem Konzentrationsbereich von 0 bis 200 mg/l angesetzt und entsprechend den Proben aufgearbeitet.

Die Bestimmung der Verbindungen erfolgte im SIM-Modus über drei charakteristische Massen  $m/z = 117/111/82$  (Trichloracetaldehyd),  $m/z = 108/82/74$  (Dichloracetonitril),  $m/z = 97/83/61$  (1,1,1-Trichlorpropanon) und  $m/z = 117/93/82$  (Chlorpikrin). Die Konzentrationen in den Proben wurden über die Bezugsfunktionen unter Berücksichtigung der Messempfindlichkeiten bei der jeweiligen Probensequenz, die durch entsprechende Standards ermittelt wurde, berechnet.

#### 6.2.3.2 Proben aus Kläranlagen und aerobe Abbau-Versuche

Für die Untersuchungen der Proben aus Kläranlagen und zum Abbau-Verhalten von Trichloracetaldehyd war eine höhere Anreicherung notwendig. Die Proben wurden entsprechend dem Aufarbeitungsschema in Abb. 40 behandelt und der TBME-Extrakt zur Bestimmung (Tab. 28) verwendet.

#### 6.2.4 Halogenierte aromatische Säuren

Die Bestimmung halogener aromatischer Säuren erfolgte gaschromatographisch-massenspektrometrisch nach Anreicherung und Derivatisierung zu Methyl- und Butylestern.

**Bestimmung als Methylester:**

Die Aufarbeitung zu Methylestern ist in Abb. 40 dargestellt, die GC-MS-Bedingungen werden in Tab. 30 aufgeführt.

**Bestimmung als Butylester:**

Für die qualitative Bestimmung dieser Verbindungen wurde eine Derivatisierungsreaktion mit Butylchlorformiat (BCF) in Anlehnung an Töpfer (1999) durchgeführt (Abb. 41). Die Methode basiert auf der Reaktion des Derivatisierungsreagenz mit der Säurefunktion der jeweiligen Substanz. Katalysator ist Pyridin, das als Protonenfänger wirkt. Nach Reaktion des Analyten mit dem Butylchlorformiat (unter Abspaltung eines Chlorid-Ions) und anschließender Freisetzung von Kohlendioxid entstehen Butylester, die sich aufgrund einer geringeren Polarität gut extrahieren lassen und niedrigere Siedepunkte besitzen. Die Umsetzung im Ultraschallbad gewährleistet eine schnelle und gute Durchmischung der Reaktionspartner, eine vorherige Extraktion und Aufreinigung ist nicht notwendig.

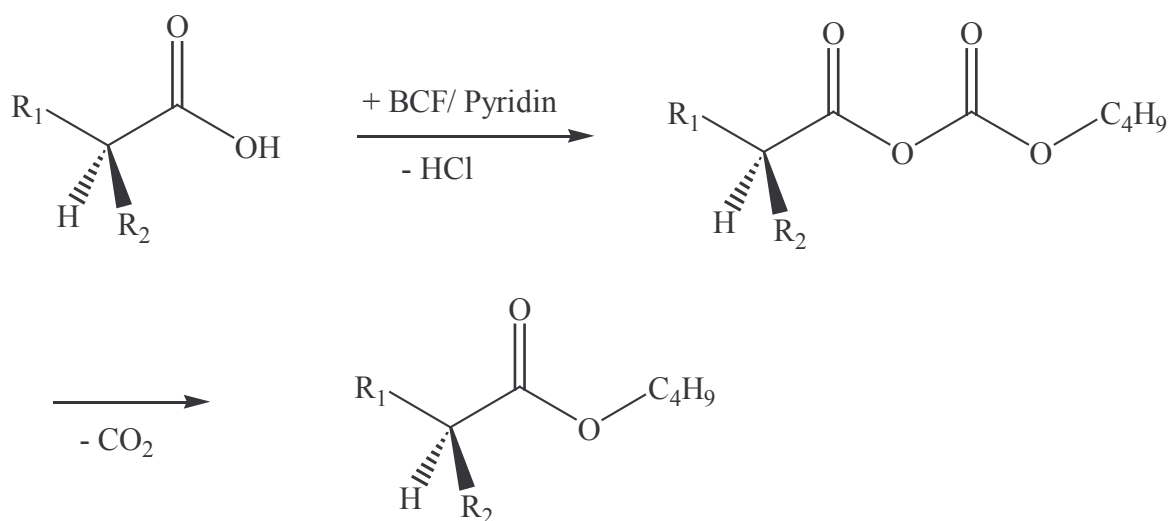


Abb. 41: Prinzip der Derivatisierung von organischen Säuren mit Butylchlorformiat

**Durchführung:**

Für die Derivatisierung wurde ein Volumen von 300  $\mu$ l Probe bzw. Standardlösung in 1 ml-Vials pipettiert und 40  $\mu$ l Pyridin als Katalysator zugegeben. Anschließend wurden im Ultraschallbad tropfenweise 50  $\mu$ l Butylchlorformiat zugesetzt. Nach Abklingen der intensiven Reaktion (starke Schaumbildung) wurde die wässrige Lösung mit 300  $\mu$ l Toluol extrahiert und der Extrakt mittels GC-MS analysiert (Abb. 42).

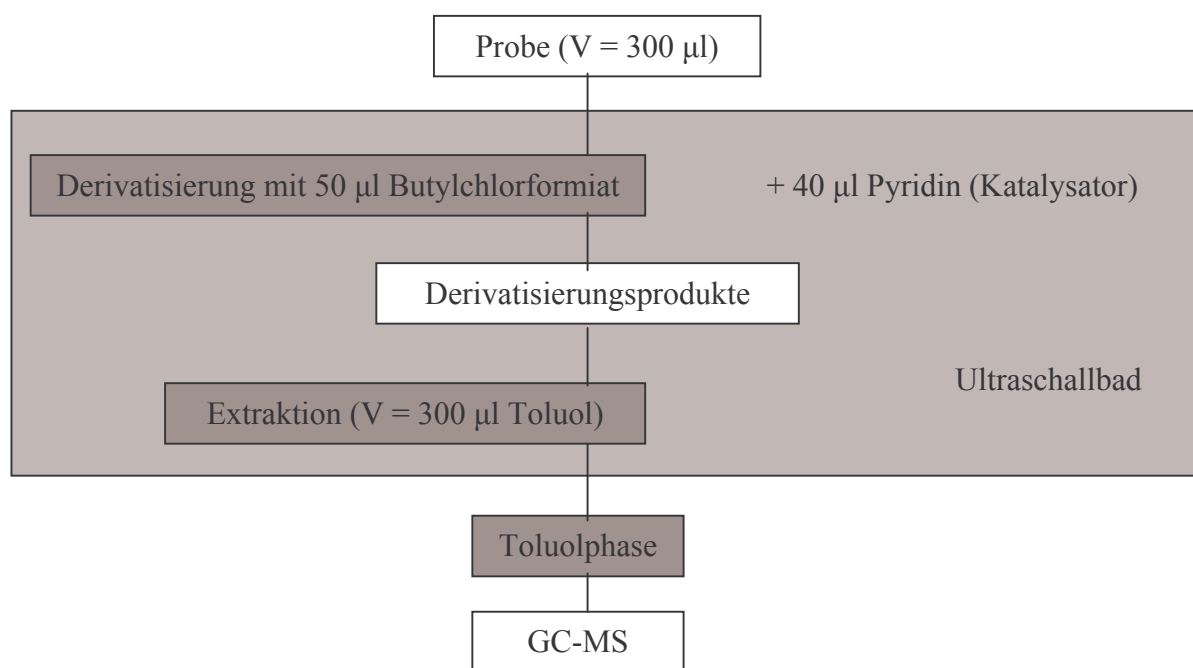


Abb. 42: Schema – Derivatisierung organischer Säuren (Mehode modifiziert nach Töpfer 1999)

Die Untersuchung wurde entsprechend den in Tab. 30 genannten Bedingungen durchgeführt.

Tab. 30: GC-MS-Methode – Halogenierte aromatische Säuren

Säule	Kapillarsäule ZB-5 (5%- Diphenylpolysiloxan-95%-Dimethylpolysiloxan), Phenomenex (30 m x 0,25 mm i.D.; Filmdicke: 0,25 µm)		
Injektionstemperatur	200°C		
Injektionsvolumen	1 µl (Methylester) bzw. 2,5 µl (Butylester), splitlos		
Ofenprogramm	Ofentemperatur [°C]	Isotherme Zeit [min]	Heizrate [°C/min]
Methylester	35	2	5
	190	3	10
	320	2	
Butylester	90	1	5
	200	2	10
	240	10	10
	260	15	
Modus	Full-Scan 50-500 (0,25 Sekunden pro Scan)		



Die Fragmente der 2-Chlorbenzoesäure ( $R_t = 20,3$  min) und 2,4-Dichlorbenzoesäure ( $R_t = 24,1$  min) erklären sich durch die Molekülmassen  $M^+ = 170$  und  $M^+ = 204$ , die Massen  $m/z = 139$  bzw.  $173$  durch Abspaltung von  $OCH_3^+$ ,  $m/z = 111$  bzw.  $145$  durch Abspaltung von  $CO^+$ . 2-Chlorphenylelessigsäure ( $R_t = 22,4$  min) und 2,4-Dichlorphenylelessigsäure ( $R_t = 26,6$  min) fragmentierten zu  $m/z = 149$  bzw.  $183$  durch Abspaltung eines Chlor-Ions,  $m/z = 125$  bzw.  $159$  durch Abspaltung von  $CO_2CH_3^+$  und  $m/z = 89$  bzw.  $123$  durch Abspaltung von Wasserstoff-Chlorid.

Bei der qualitativen Bestimmung im CI-Modus (Reaktand-Gas: Methan) war das Auftreten der Addukt-Ionen  $(M+C_2H_5)^+$  und  $(M+C_3H_5)^+$  charakteristisch.

In den Massenspektren der butylierten aromatischen Säuren war in allen Fällen das  $(M-C_4H_9)^+$ -Fragment dominierend, während sich die Massenspektren ansonsten nicht von denen der methylierten Verbindungen unterschieden.

Nach chemischer Ionisation der butylierten Substanzen mit Methanol traten charakteristische  $(M+H)^+$ -Ionen auf. Abb. 43 zeigt das Massenspektrum von 4,5-Dichlorphthalsäure.

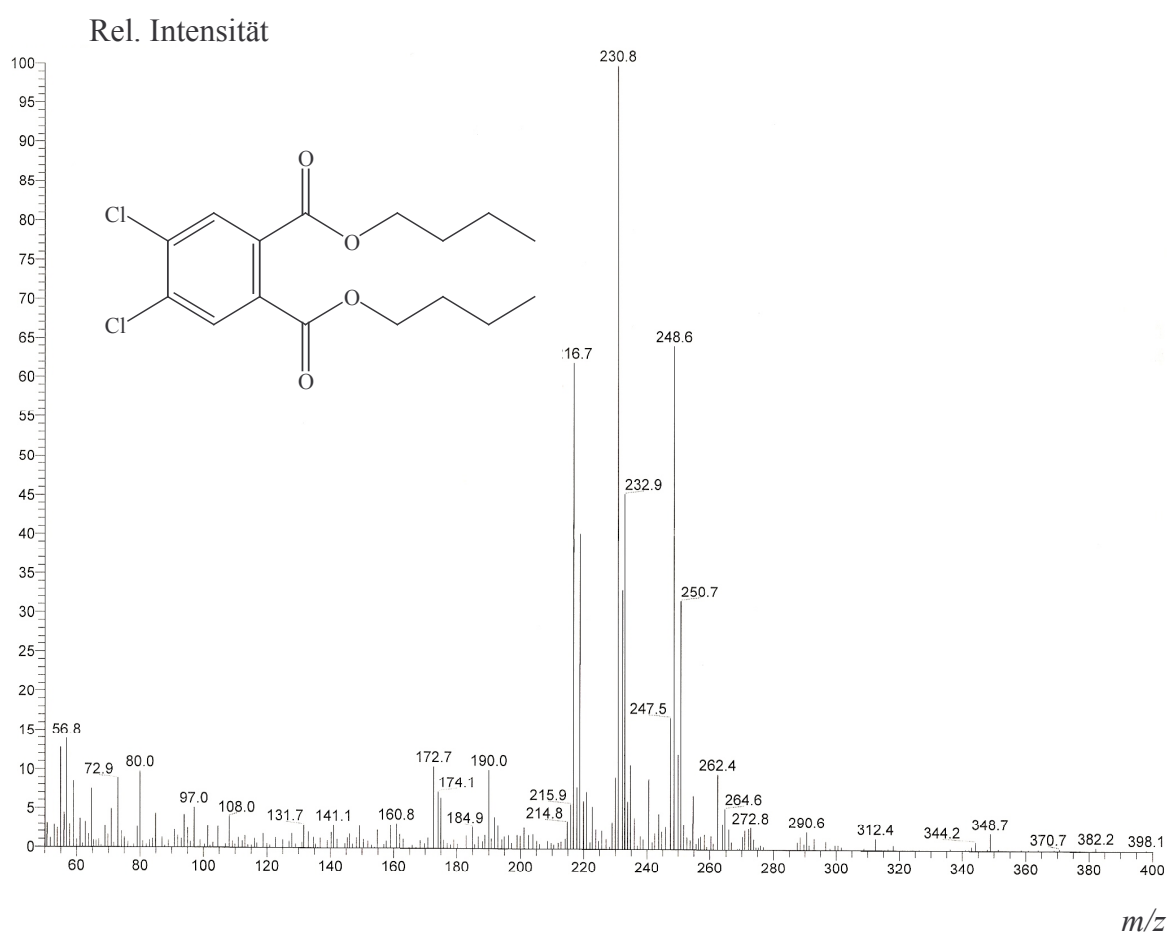


Abb. 43: Massenspektrum von 4,5-Dichlorphthalsäure (als Butylester) (CI-Modus Methanol)

Bei Einsatz des Reaktand-Gases Wasser im CI-Modus war das Auftreten des Molekül-Ions charakteristisch. Wurde mit Methan ionisiert, traten die charakteristischen Addukt-Ionen  $(M+C_2H_5)^+$  und  $(M+C_3H_5)^+$  auf.

Für die Quantifizierung wurden Standard-Lösungen in einem Konzentrationsbereich von 0 bis 10 mg/l angesetzt und nach Methylierung entsprechend Abb. 40 über die charakteristischen Massen  $m/z = 170/139/111$  (2-Chlorbenzoesäure),  $m/z = 204/173/145$  (2,4-Dichlorbenzoesäure),  $m/z = 149/125/89$  (2-Chlorphenylelessigsäure) und  $m/z = 183/159/123$  (2,4-Dichlorphenylelessigsäure) Kalibriergeraden erstellt. Die Konzentration in den Proben wurde über die erhaltenen Regressionsgeraden unter Berücksichtigung der Empfindlichkeit bestimmt.

### 6.2.5 Chlorierte Phenole, Toluole und 2-Chloranilin

Für die Bestimmung chlorierter Phenole, Toluole und von 2-Chloranilin wurden Festphasenextraktionen (SPE) und Flüssig-/flüssig-Extraktionen mit verschiedenen Lösungsmitteln bei den pH-Werten 2 und 7 durchgeführt (Einstellung der pH-Werte mit 1 M  $H_2SO_4$  und 1 M NaOH).

Als Festphasen wurden C-8-Phasen (Octyl / bifunktional), C-18-Phasen (Dodecyl / bifunktional) und C-18-Phasen (Dodecyl / bifunktional / endcapped) verwendet, während sich C-Ph-Phasen (Phenyl / bifunktional) als ungeeignet erwiesen.

Die Konditionierung der Phasen wurde mit 3 SV Aceton, 3 SV Methanol und 3 SV bidestilliertem Wasser durchgeführt, danach die Proben bzw. Standardlösungen aufgegeben und mit 5 ml Methanol, 5 ml Aceton und 5 ml TBME eluiert.

Als Extraktionsmittel für die Flüssig-/flüssig-Extraktionen wurden TBME, Toluol, Ethylacetat und Diethylether verwendet. Es wurden 20 ml der Probe mit 20 ml Extraktionsmittel ausgeschüttelt (10 ml + 5 ml + 5 ml) und die organische Phase verwendet.

Für den qualitativen Nachweis von Phenolen und von 2-Chloranilin mit Hilfe der GC-MS-Technik wurde die in Tab. 31 genannte Methode zur Bestimmung phenolischer Verbindungen verwendet.

Tab. 31: GC-MS-Methode – Halogenierte Phenole, Toluole und 2-Chloranilin

Säule	Kapillarsäule ZB-5 (5%- Diphenylpolysiloxan-95%-Dimethylpolysiloxan), Phenomenex (30 m x 0,25 mm i.D.; Filmdicke: 0,25 µm)		
Injektionstemperatur	260°C		
Injektionsvolumen	3 µl, splitlos		
Ofenprogramm	Ofentemperatur [°C]	Isotherme Zeit [min]	Heizrate [°C/min]
	40	4	12
	260	5	
Modus	Full-Scan 50-400 (0,25 Sekunden pro Scan)		

Von den entsprechenden Standardsubstanzen wurden Tochtterspektren durch Fragmentierung der Target-Ionen  $m/z = 128$  (2-Chlorphenol),  $m/z = 162$  (2,4-Dichlorphenol),  $m/z = 196$  (2,4,6-Trichlorphenol) und  $m/z = 264$  (Pentachlorphenol) aufgenommen.

In Tab. 32 stehen Retentionszeiten und Massenfragmente der untersuchten Verbindungen.

Tab. 32: Retentionszeiten und Massenfragmente phenolischer Substanzen

Verbindung	Retentionszeit $R_t$ [min]	$m/z$
Phenol	9,5	<b>94/66</b>
2-Chlorphenol	9,7	<b>128/100/63</b>
2,4-Dichlortoluol	11,6	<b>160/125/89</b>
2-Nitrophenol	11,7	<b>139/109/81</b>
2,4-Dimethylphenol	12,0	<b>122/107/77</b>
2-Chloranilin	12,1	<b>127/92/65</b>
2,4-Dichlorphenol	12,3	<b>162/98/63</b>
4-Chlor-3-methylphenol	13,8	<b>142/107/77</b>
2,4,6-Trichlorphenol	14,7	<b>196/132/97</b>
2,4-Dinitrophenol	16,4	<b>184/154/107</b>
4-Nitrophenol	16,7	<b>139/109/81</b>
2-Methyl-4,6-dinitrophenol	17,6	<b>198/168/121</b>
Pentachlorphenol	19,0	<b>264/202/165</b>

Zur Qualifizierung von 2,4-Dichlortoluol wurde die Verbindung im CI-Modus mit den Reaktand-Gasen Methanol und Wasser vermessen. Dabei war das Auftreten der Moleküladdukte  $(M+H)^+ = 161$  und  $(M+CH_3OH+H)^+ = 193$  bzw.  $(M+H)^+ = 161$  und

$(M+H_3O)^+ = 179$  charakteristisch. Die Quantifizierung von 2,4-Dichlortoluol erfolgte im SIM-Modus über die Massen  $m/z = 160/125/89$  im EI-Modus über externe Kalibration.

### 6.2.6 Halogenierte Anisole

Zur Untersuchung der Bildung von halogenierten Anisolen kam die „Purge-and-Trap“-Methodik zur Anwendung, die auch bei der Analytik der LHKW Anwendung fand. Die Bedingungen der Probenaufgabe werden in Tab. 26 genannt. Von den Proben wurden jeweils 4 ml eingesetzt.

Des Weiteren wurden Untersuchungen unter Einsatz der Festphasenmikroextraktion (SPME) durchgeführt, bei der eine Carboxen-/Polydimethylsiloxan-Faser nach Erhitzung der Lösungen in einem geschlossenen Vial nach Gleichgewichtseinstellung in die Gasphase eingeführt wurde. Nach Adsorption der Komponenten aus der Gasphase wurde die SPME-Faser in den Injektorblock eingebracht und die Substanzen in den Gaschromatographen eluiert. Die gaschromatographisch-massenspektrometrischen Bedingungen werden in Tab. 33 aufgeführt.

Tab. 33: GC-MS-Methode – Halogenierte Anisole

Säule („Purge-and-Trap“)	Kapillarsäule ZB-624 (6%- Cyanopropylphenyl-94%-Dimethylpolysiloxan), Phenomenex (30 m x 0,25 mm i.D.; Filmdicke: 1,4 µm)		
Säule (SPME)	Kapillarsäure ZB-5 (5%- Diphenylpolysiloxan-95%-Dimethyl-polysiloxan), Phenomenex (30 m x 0,25 mm i.D.; Filmdicke: 0,25 µm)		
Injektionstemperatur	260°C		
Ofenprogramm	Ofentemperatur [°C]	Isotherme Zeit [min]	Heizrate [°C/min]
„Purge-and-Trap“	40	2	5
	240	5	
SPME	40	4	12
	260	5	
Modus	Full-Scan 50-400 (0,26 Sekunden pro Scan)		

2,4-Dichloranisol konnte nach einer Retentionszeit von 30,6 Minuten („Purge-and-Trap“) bzw. 12,7 Minuten (SPME) detektiert werden ( $m/z = 176/161/133$ ).

2,4,6-Trichloranisol eluierte nach 33,3 Minuten („Purge-and-Trap“) bzw. 14,4 Minuten (SPME) ( $m/z = 210/195/167$ ).

Die Massen  $m/z = 176$  und  $m/z = 210$  wurden mit der GC-MS/MS-Technik selektiert und von den Fragmenten Tochter-Spektren aufgenommen.

### 6.2.7 3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon

Die Proben wurden mit 5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  auf einen pH-Wert von 2 angesäuert. 50 ml der Lösungen wurden dreimal mit Diethylether extrahiert (50 ml + 25 ml + 25 ml) und die vereinigten organischen Phasen am Rotationsverdampfer eingengt und anschließend im Stickstoffstrom getrocknet. Der Rückstand wurde in 0,5 ml einer methanolischen Bortrifluorid-Lösung aufgenommen und eine Stunde bei einer Reaktionstemperatur von 95°C derivatisiert. Nach Abkühlen des Reaktionsgemisches wurde die Lösung mit 1 ml einer 2%-igen Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert und dreimal mit 500  $\mu\text{l}$  Hexan extrahiert. 1  $\mu\text{l}$  der vereinigten Extrakte wurde in den Gaschromatographen injiziert (Methode in Anlehnung an Xu et al. 1997, Junhe et al. 2002). Die gaschromatographischen Bedingungen der Untersuchung sind in Tab. 34 wiedergegeben.

Tab. 34: GC-MS-Methode – 3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon

Säule	Kapillarsäule ZB-5 (5%- Diphenylpolysiloxan-95%-Dimethylpolysiloxan), Phenomenex (30 m x 0,25 mm i.D.; Filmdicke: 0,25 $\mu\text{m}$ )		
Injektionstemperatur	260°C		
Injektionsvolumen	1 $\mu\text{l}$ , splitlos		
Ofenprogramm	Ofentemperatur [°C]	Isotherme Zeit [min]	Heizrate [°C/min]
	40	1	10
	300	5	
Modus	Full-Scan 50-300 (0,25 Sekunden pro Scan)		

Die charakteristischen Fragmente von 3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon (MX) sind  $m/z = 199$  (Abspaltung Hydroxygruppe), 147 (Abspaltung  $\text{HOCl}^+$  und Hydroxy-Fragment unter Öffnung des heteroaromatischen Ringes) und 117 (Abspaltung  $\text{CCl}_2^+$  von  $m/z = 199$ ). Der zur Überprüfung der Methode verwendete Standard 2,4-Dichlor-5-

fluoracetophenon hatte die Massen  $m/z = 206$  ( $M^+$ ), 191 (Abspaltung Methylgruppe) und 163 (Abspaltung C-O<sup>+</sup>).

Die Untersuchungen wurden im TIC- und SIM-Modus durchgeführt und die charakteristischen Massen mittels MS/MS-Kopplung analysiert.

### 6.3 Erfassung von Nebenprodukten der Desinfektion als AOX

Zur Bestimmung der Wiederfindungen von identifizierten Nebenprodukten der Desinfektion als AOX wurden Lösungen in einem Konzentrationsbereich bis zu 263,7 µg/l Cl (Chloroform), 252,6 µg/l Cl (Dichloressigsäure) und 274,2 µg/l Cl (Trichloracetaldehyd) angesetzt und die AOX-Gehalte dieser Lösungen ermittelt (Bestimmungsmethode Kap. 6.1.1). Die Wiederfindungsrate wurde durch Vergleich der gemessenen AOX und der berechneten Chlor-Gehalte bestimmt.

Die Umrechnungsfaktoren auf den Chloridgehalt der Substanzen sind 0,891 für Chloroform, 0,550 für Dichloressigsäure und 0,722 für Trichloracetaldehyd. Die Überprüfung des Gesamtverfahrens erfolgte mit p-Chlorphenol.

### 6.4 Verhalten freier Aminosäuren bei der Desinfektion

Die Derivatisierungsmethode mit Butylchlorformiat (BCF) bietet die Möglichkeit, Aminosäuren gaschromatographisch zu erfassen (Kap. 6.2.4). Für die Derivatisierung von Aminosäuren wurden 300 µl Lösung in 1 ml-Vials pipettiert und 40 µl Pyridin als Katalysator zugegeben. Dann wurden tropfenweise 50 µl Butylchlorformiat als Derivatisierungsreagenz zugesetzt (im Ultraschallbad). Nach Abklingen der intensiven Reaktion wurde die wässrige Lösung mit 300 µl Toluol extrahiert und der Extrakt mittels GC-MS vermessen.

Als Modell-Verbindungen wurden Alanin, Leucin, Prolin, Phenylalanin, Glutaminsäure, Tyrosin und Tryptophan gewählt. Die GC-MS-Bedingungen sind in Tab. 35 dargestellt.

Tab. 35: GC-MS-Methode – Untersuchung von Aminosäuren (als Butylester)

Säule	Kapillarsäule ZB-5 (5%- Diphenylpolysiloxan- 95%- Dimethylpolysiloxan), Phenomenex (30 m x 0,25 mm i.D.; Filmdicke: 0,25 µm)		
Injektionstemperatur	200°C		
Injektionsvolumen	2,5 µl, splitlos		
Ofenprogramm	Ofentemperatur [°C]	Isotherme Zeit [min]	Heizrate [°C/min]
	90	1	5
	200	2	10
	240	10	10
	260	15	
Modus	Full-Scan 50-500 (0,25 Sekunden pro Scan)		

Die Retentionszeit und Massen der unbehandelten Aminosäuren sind Tab. 20 (Kap. 3.3.2) zu entnehmen.

Für den qualitativen Nachweis der Bildung von Aldehyden und Nitrilen aus Aminosäuren wurden Lösungen von Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan und Leucin in einer Konzentration von 0,1 g/l angesetzt. Anschließend wurde Natriumhypochlorit zugegeben (molares Verhältnis NaOCl:Aminosäure 1,5:1), die Reaktionstemperatur war  $T = 30^{\circ}\text{C}$ , die Reaktionszeit betrug 45 min. Nach Beendigung der Reaktion wurden 20 ml Probe mit 20 ml Toluol (10 ml + 5 ml + 5 ml) ausgeschüttelt. Die Qualifizierung der Aldehyde und Nitrile wurde im EI- und CI-Modus (Reaktand-Gas: Methan) durchgeführt. Die gaschromatographisch-massenspektrometrischen Bedingungen werden in Tab. 36 wiedergegeben.

Tab. 36: GC-MS-Methoden – Untersuchungen zum Verhalten von Aminosäuren im Rahmen der Desinfektion

Säule	Kapillarsäule ZB-5 (5%- Diphenylpolysiloxan- 95%- Dimethylpolysiloxan), Phenomenex (30 m x 0,25 mm i.D.; Filmdicke: 0,25 µm)		
Injektionstemperatur	260°C		
Injektionsvolumen	1 µl, splitlos		
Ofenprogramm	Ofentemperatur [°C]	Isotherme Zeit [min]	Heizrate [°C/min]
4-Hydroxyphenyl- acetaldehyd	35	3	10
	320°C	3	
Indol-3-acetaldehyd	80	1	15
	240	3	
Isovaleronitril	35	5	10
	240	3	
Sonstige Aldehyde/Nitrile	40	1	8
	320	4	
Modus	Full-Scan 50-500 (0,25 Sekunden pro Scan)		

Als Modell-Verbindungen für die quantitative Bestimmung der Umsetzung von Aminosäuren zu Aldehyden und Nitrilen wurde Phenylalanin ausgewählt. Von Phenylacetaldehyd und Phenylacetonitril wurden Lösungen in einem Konzentrationsbereich von 0-100 mg/l (Phenylacetaldehyd) bzw. 0-250 mg/l (Phenylacetonitril) angesetzt und 20 ml mit Toluol extrahiert (10 ml + 5 ml + 5 ml). Die GC-MS-Messungen wurden im SIM-Modus entsprechend Tab. 37 durchgeführt (Phenylacetaldehyd:  $m/z = 120/91/65$ ; Phenylacetonitril:  $m/z = 117/90/63$ ; Phenylalanin:  $m/z = 204/148/120$ ).

Anschließend wurden Referenzlösungen mit Phenylalanin in den Konzentrationen  $c = 600$  mg/l, 100 mg/l, 50 mg/l, 40 mg/l, 20 mg/l und 10 mg/l angesetzt. Die Lösungen wurden mit Natriumhypochlorit in den Konzentrationen  $c = 14,6$  g/l, 1,46 g/l sowie 1,5-fachem molaren Überschuss versetzt. Die Reaktionstemperaturen waren 4°C und 30°C, die Reaktionszeit betrug 45 Minuten.



Tab. 37: GC-MS-Methoden – Bestimmung von Phenylacetaldehyd und Phenylacetonitril

Säule	Kapillarsäule ZB-5 (5%- Diphenylpolysiloxan- 95%- Dimethylpolysiloxan), Phenomenex (30 m x 0,25 mm i.D.; Filmdicke: 0,25 µm)		
Injektionstemperatur	260°C bzw. 300°C (Phenylacetonitril quantitativ)		
Injektionsvolumen	1 µl, splitlos		
Säulenvordruck	30 psi für 7 min (Phenylacetonitril quantitativ)		
Ofenprogramm	Ofentemperatur [°C]	Isotherme Zeit [min]	Heizrate [°C/min]
	40	1	5
	115	0	20
	200	2	
Modus	Full-Scan 50-500 (0,25 Sekunden pro Scan)		

## 6.5 Aerobes Abbauverhalten in aquatischen Medien

Die Untersuchungen zur Abbaubarkeit von Dichloressigsäure und Trichloracetaldehyd unter aeroben Bedingungen in wässrigen Medien wurden in Anlehnung an die DIN EN ISO 10707 (DEV L 46) durchgeführt.

### 6.5.1 Bestimmung der vollständigen aeroben Abbaubarkeit

Eine Lösung der organischen Testsubstanz in mineralischem Medium wurde als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle mit einer relativ geringen Menge an Mikroorganismen aus einer Mischkultur (Belebtschlamm aus einer Kläranlage) angeimpft und in vollständig gefüllten, geschlossenen Flaschen bei konstanter Temperatur im Dunkeln inkubiert. Der Abbau wurde über Sauerstoffbedarf oder direkte Konzentrationsbestimmung mittels GC-MS über eine Zeitspanne von 28 Tagen bestimmt.

#### Chemikalien:

Harnstoff (mind. 99,0%), AppliChem

Ammoniumchlorid (p.a., ≥ 99,0%), Fluka

Calciumchlorid-Dihydrat (p.a., mind. 99,5%), Dikaliumhydrogenphosphat (p.a., mind. 99,0%), Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat (p.a., mind. 99,5%), Magnesiumsulfat-

Heptahydrat (p.a., mind. 99,5%), penta-Natriumtriphosphat (57-59%  $P_2O_5$ , acidimetrisch), Merck

Kaliumdihydrogenphosphat (p.a., mind. 99,5%), Eisen(III)-chlorid-Hexahydrat (p.a., mind. 99,0%), Riedel-de Haën

Für die Herstellung des Mineralmediums wurden Stammlösungen vorbereitet, aliquotiert und bis zum Gebrauch innerhalb von drei Tagen bei 4°C gelagert.

Lösung A:

8,5 g Kaliumdihydrogenphosphat, 21,75 g Dikaliumhydrogenphosphat, 33,4 g Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat und 0,5 g Ammoniumchlorid wurden in Wasser gelöst, anschließend das Volumen auf 1000,0 ml eingestellt.

Lösung B:

22,5 g Magnesiumsulfat-Heptahydrat wurden in 1000 ml Wasser gelöst.

Lösung C:

36,4 g Calciumchlorid-Dihydrat wurden in 1000 ml Wasser gelöst.

Lösung D:

0,25 g Eisen(III)-chlorid-Hexahydrat wurden in 1000 ml Wasser gelöst. Der Lösung wurde ein Tropfen konzentrierter Salzsäure zugefügt.

Chemikalien für die GC-MS-Bestimmung / -Probenaufarbeitung: Kap. 6.2

Vorbereitung des Testmediums:

1 ml der Lösungen A bis D wurden zu 500 ml Wasser gegeben und auf ein Volumen von 1000 ml aufgefüllt. Das Testmedium wurde bis zur Sauerstoffsättigung auf ungefähr 9 mg/l  $O_2$  belüftet und bei der Testtemperatur von 20°C inkubiert. Jede Testserie wurde mit Testmedium aus demselben Ansatz durchgeführt. Dabei war auf blasenfreies Ab- und Umfüllen zu achten.

Es wurde im Dunkeln bei einer Temperatur von  $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  inkubiert und die Temperatur während des gesamten Versuches konstant gehalten.

**Geräte:**

BSB-Flaschen mit Glasstopfen ( $V = 250 \text{ ml}$ )

Sauerstoffmessgerät: Oximeter Oxi 323; WTW

pH-Meter: CG 804, Schott

GC-MS-System: s. Kap. 6.2

**Durchführung:**

Vorbereitung der Testsubstanzlösung:

Es wurden Stammlösungen von Dichloressigsäure und Trichloracetaldehyd im Testmedium vorbereitet ( $c = 1 \text{ g/l}$ ). Dann wurde in 5 l-Erlenmeyerkolben ein ausreichendes Volumen an Stammlösung des Testmediums gegeben, so dass die Endkonzentration der Testsubstanz  $2 \text{ mg/l}$  betrug.

Vorbereitung der Referenzsubstanzlösung:

Eine Natriumacetat-Stammlösung wurde im Testmedium vorbereitet ( $c = 1 \text{ g/l}$ ). Anschließend wurde in 5 l-Erlenmeyerkolben ein ausreichendes Volumen der Stammlösung gegeben, um eine Testkonzentration von  $2 \text{ mg/l}$  zu erhalten.

Vorbereitung der Hemmkontrolle:

Um die toxische Wirkung der Testsubstanzen zu prüfen, wurden 5 l-Erlenmeyerkolben mit belüftetem Testmedium, Testsubstanz und Referenzsubstanz vorbereitet und dabei die gleichen Konzentrationen wie in den anderen Flaschen verwendet.

Vorbereitung des Inokulums:

In den Tests wurde ein Inokulum ohne Schlammflocken verwendet. Die Probenahme des Inokulums erfolgte aus dem Belebtschlamm-Becken der Kläranlage Hassloch, in die vor allem kommunale Abwässer und Weinbau-Abwässer gelangen. Die Proben wurden während des Transports aerob gehalten und anschließend mit Testmedium im Verhältnis 1:3 verdünnt,  $2,4 \text{ g/l}$  Harnstoff und  $0,96 \text{ g/l}$  penta-Natriumtriphosphat zugegeben und bis zum Gebrauch belüftet. Nach Absetzen von suspendierten Stoffen wurde der Überstand des Inokulums durch ein grobes Papierfilter gegeben. Die Eignung des Inokulums wurde durch Feststellung der Dehydrogenase-Aktivität (Kap. 6.5.2) überprüft.

Vorbereitung der Testflaschen:

Die BSB-Flaschen wurden mit Ethanol und Wasser gereinigt und bei 65°C getrocknet. Die Bestimmung der Konzentrationen an Testsubstanz wurde jeweils in 2 parallelen Flaschen am Testanfang und nach 7, 14, 21 und 28 Tagen durchgeführt.

Ein Testansatz umfasste folgende Flaschen:

- 3 x 10 Flaschen mit Testsubstanz und Inokulum (pH-Werte 4, 7, 10)
- 3 x 10 Flaschen mit Testsubstanz ohne Inokulum (pH-Werte 4, 7, 10)
- 10 Flaschen mit Natriumacetat (Referenzsubstanz) und Inokulum;
- 10 Flaschen nur mit Inokulum;
- und 6 Flaschen mit Testsubstanz, Referenzsubstanz und Inokulum (Hemmkontrollansatz) (nur in den ersten Testserien, um die toxikologische Wirkung der Testsubstanzen auf das Inokulum im jeweiligen Konzentrationsbereich zu überprüfen).

Die großen Erlenmeyerkolben wurden mit dem belüfteten Testmedium zu einem Drittel aufgefüllt und Stammlösung der Test- und Referenzsubstanz zugegeben, um die gewünschte Testkonzentration (2 mg/l) zu erreichen. Die Erlenmeyerkolben wurden mit 4,86 ml/l Inokulum (entsprechend 1,62 ml reinem Inokulum) beimpft, mit Testmedium aufgefüllt und gut durchmischt. Unmittelbar danach wurden die Lösungen in die BSB-Flaschen luftblasenfrei verteilt und diese vollständig aufgefüllt.

Testdurchführung:

Der Sauerstoff-Gehalt bzw. die Konzentration an Dichloressigsäure bzw. Trichloracetaldehyd in den Flaschen, die für den Testbeginn vorgesehen waren (Zeitpunkt 0), wurde unmittelbar nach Ansetzen bestimmt (GC-MS-Bedingungen, - Aufarbeitung Kap. 6.2.2 / 6.2.3). Die verbleibenden Flaschen wurden im Dunkeln bei  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  inkubiert. Am 7., 14., 21. und 28. Tag (Testende) wurden 2 parallele Flaschen einer jeden Ansatzserie entnommen und der Sauerstoffbedarf bzw. die Konzentration der Analyten bestimmt.

Der Abbau der Referenzsubstanzen zur Überprüfung des Gesamtverfahrens wurde über die Messung des Sauerstoffverbrauches (jede Inkubationsperiode) bestimmt.

### **Berechnung:**

Der Abbau der Testsubstanzen wurde über ihre Sauerstoffzehrung oder die Abnahme der Konzentration an Testsubstanz bei Bestimmung mittels GC-MS ermittelt.

Bei der Bestimmung des Abbaus über den Sauerstoffbedarf wurde nach Abzug der Zehrung des mitgeführten Blindansatzes der korrigierte Sauerstoff-Gehalt der Testsubstanz durch die

Konzentration der Testsubstanz dividiert, um den spezifischen Sauerstoffbedarf in Milligramm Sauerstoff je Milligramm Testsubstanz zu erhalten. Nach Division des spezifischen Sauerstoffbedarfs durch den spezifischen theoretischen Sauerstoffbedarfs (ThSB) erhielt man den prozentualen Abbaugrad. Es wurde jeweils der Mittelwert aus den Prozentwerten der parallelen Ansätze gebildet. Der mittlere prozentuale Gehalt der Testsubstanzen wurde gegen die Zeit aufgetragen.

Berechnung des prozentualen Abbaugrades der Testsubstanz zum Zeitpunkt  $t$ :

$$D_t = \frac{(\rho_0 - \rho_{0,t}) - (\rho_{0,b} - \rho_{0,t,b})}{ThSB * \rho_c}$$

Dabei ist:

- $D_t$             prozentualer Abbaugrad der Testsubstanz zum Zeitpunkt  $t$ ;
- $\rho_0$             Sauerstoffkonzentration zum Zeitpunkt 0 in den Flaschen mit Referenzsubstanz, in Milligramm je Liter;
- $\rho_{0,t}$            Sauerstoffkonzentration zum Zeitpunkt  $t$  in den Flaschen mit Referenzsubstanz, in Milligramm je Liter;
- $\rho_{0,b}$            mittlere Sauerstoffkonzentration zum Zeitpunkt 0 in den Flaschen des Blindwerts, in Milligramm je Liter;
- $\rho_{0,t,b}$         mittlere Sauerstoffkonzentration zum Zeitpunkt  $t$  in den Flaschen des Blindwerts, in Milligramm je Liter;
- ThSB           theoretischer Sauerstoffbedarf in Milligramm je Milligramm Testsubstanz;
- $\rho_c$             Konzentration der Testsubstanz in den Testflaschen, in Milligramm je Liter.

Dieselbe Berechnung wurde für den Ansatz mit der Referenzsubstanz Natriumacetat und die Hemmkontrollansätze durchgeführt.

### **Gültigkeit:**

Der Test kann als valide betrachtet werden, wenn

- innerhalb von 14 Tagen ein mindestens 60%-iger Abbau von Natriumacetat erfolgt,
- die Abbauwerte in den Parallelansätzen um weniger als 20% voneinander abweichen,
- in der Toxizitätskontrolle die Referenzsubstanz zu mehr als 25% abgebaut wird (bei Werten unter 25% gilt die Substanz als Inhibitor),

- im Blindansatz die Konzentration an gelöstem Sauerstoff um nicht mehr als 1,5 mg nach 28 Tagen abnimmt,
- die Konzentration an gelöstem Sauerstoff in den Testansätzen nicht unter 0,5 mg/l fällt.

In Abb. 44 ist der mittlere prozentuale Abbaugrad von Natriumacetat während der Versuche dargestellt, dessen theoretischer Sauerstoffbedarf 0,78 mg O<sub>2</sub>/mg beträgt. Die Referenzsubstanz war in allen Versuchen nach 14 Tagen zu mehr als 60% bei einer mittleren Verwertung von 80,5% abgebaut.

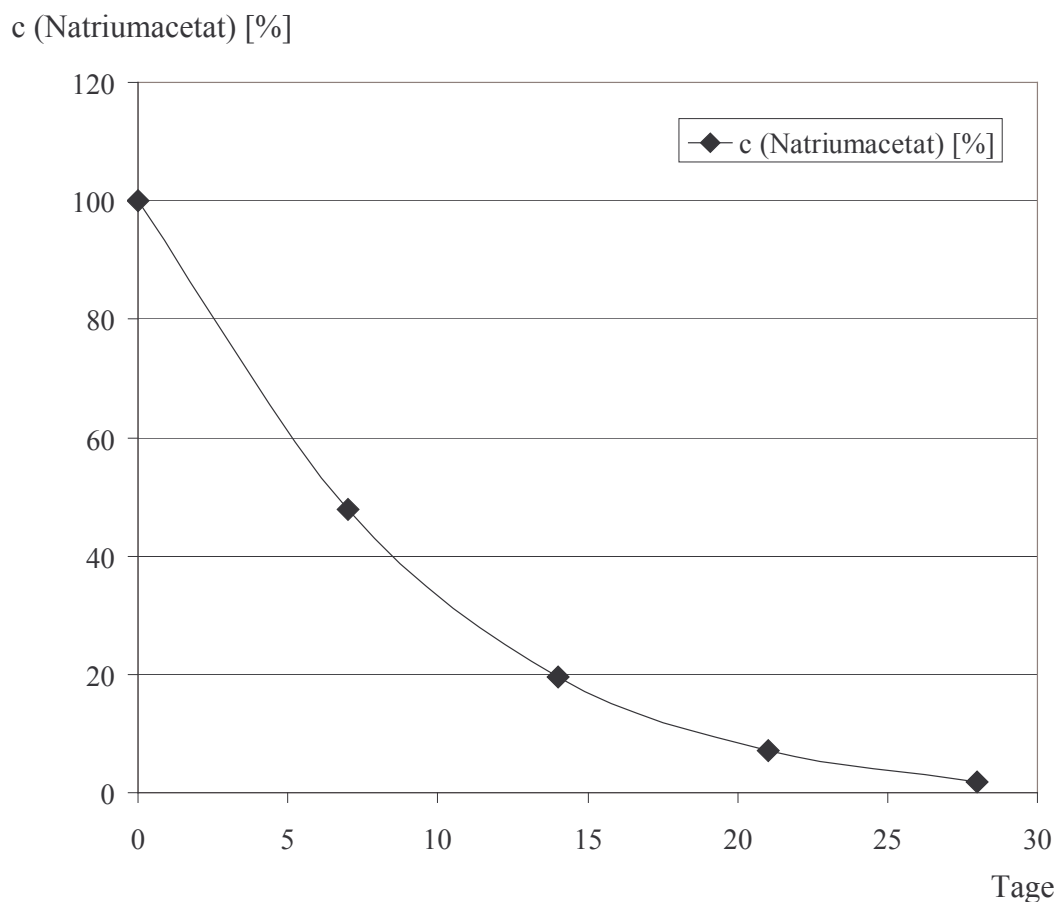


Abb. 44: Abbau von Natriumacetat im aeroben Abbau-Versuch (modifiziert nach DIN EN ISO 10707)

In den Hemmkontroll-Ansätzen mit Natriumacetat und Dichloressigsäure (theoretischer Sauerstoffbedarf 0,248 mg O<sub>2</sub>/mg Dichloressigsäure) in Konzentrationen von 2 mg/l waren nach 14 Tagen in allen Proben mehr als 25% des gesamten theoretischen Sauerstoffbedarfs verbraucht, der mittlere Abbaugrad betrug nach 7 Tagen 52,7% und nach 14 Tagen 70,6%. Daher waren keine speziellen Vorsichtsmaßnahmen hinsichtlich der toxischen Wirkung der Testsubstanz auf die Mikroorganismen des Inokulums zu treffen.

## 6.5.2 Überprüfung der Dehydrogenasenaktivität

Die Eignung des in den aeroben Abbau-Versuchen eingesetzten Inokulums wurde durch die Bestimmung der Dehydrogenasenaktivität mittels 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) überprüft.

Die Aktivität der Dehydrogenasen erlischt im Gegensatz zur Aktivität anderer Fermente mit dem Tod der Zelle, selbst dann, wenn die Zelle unter für Eiweißkörper schonendsten Bedingungen abgetötet wird. Vorhandene Dehydrogenasenaktivität ist ein Beweis für die Gegenwart lebender Zellen.

### Prinzip:

Die Aktivität der Dehydrogenasen wird durch die Bildung von rotem Formazan nach Reduktion von 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) durch die Dehydrogenasen nachgewiesen. Das Formazan wird durch Ethanol aus den Zellen extrahiert und photometrisch bestimmt. Die Bestimmung muss bei absoluter Dunkelheit während der Inkubationszeit ausgeführt werden.

### Chemikalien:

2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC):  $\geq 95\%$ , Sigma

0,5 g TTC wurden in 100 ml destilliertem Wasser gelöst. Die Lösung wurde bei 4°C im Dunkeln aufbewahrt.

Ethanol: Qualität p.a. (min. 99,8%), AppliChem

### Durchführung:

In 4 Zentrifugengläser wurde 1 ml des abgesetzten Belebtschlammes gegeben und mit destilliertem Wasser auf 10 ml aufgefüllt. Anschließend wurden 2 Gläser mit 1 ml der TTC-Lösung versetzt und umgeschüttelt, während den beiden anderen Gläsern kein TTC zugesetzt wurde. Es wurde 3 Stunden bei 25°C im Dunkeln inkubiert und danach 10 min bei 6000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde abdekantiert, 10 ml Ethanol zugegeben und kräftig umgeschüttelt. Nach erneutem Zentrifugieren wurde die alkoholische Formazan-Lösung abgegossen und bei 480 nm gegen die formazanfreie Kontrolle vermessen (Photometer Helios  $\beta$ , Unicam, Küvette 10,0 mm).

**Auswertung:**

188 µg Formazan/10 ml ergaben bei einer Schichtdicke von 10,0 mm und Wellenlänge von 480 nm eine Extinktion von 1,0. Die Dehydrogenasenaktivität wurde in µg gebildeten Formazans/mg Schlamm-trockenmasse angegeben.

$$\frac{(e \times 188)}{tm} = \frac{\mu\text{g Formazan}}{\text{mg Schlamm-trockenmasse}}$$

Dabei ist:

e Extinktion bei 480 nm, Sichtdicke der Küvette 10,0 mm

tm Trockenmasse des Inokulums nach Trocknung bei 105°C

Bei Verwendung einer Dichloressigsäure-Stammlösung von 10 mg/l bildeten sich in Abhängigkeit vom eingesetzten Volumen der Lösung zwischen 4,7 µg und 16,6 µg Formazan/mg Trockenmasse (Inokulum). Bei Einsatz einer Dichloressigsäure-Lösung von 2 mg/l betrugen die mittleren Werte an gebildetem Formazan zwischen 2,6 µg und 6,5 µg Formazan/mg Trockenmasse (Inokulum). Das verwendete Inokulum war für die Versuche geeignet.



## Literaturverzeichnis

- AHMED, A. E.; HUSSEIN, G.; LOH, J.-P.; ABDEL-RAHMEN, S.: Studies on the Mechanism of Haloacetonitrile-Induced Gastrointestinal Toxicity: Interaction of Dibromoacetonitrile with Glutathione and Glutathione-S-Transferase in Rats. *Journal of Biochemical Toxicology* 6 (1991), 115-121
- AISE Technical Task Force Hypochlorite: Benefits and Safety Aspects of Hypochlorite Formulated in Domestic Products. Scientific Dossier (1997), Brüssel
- ATV-ARBEITSGRUPPE 2.1.3: AOX und Gewässerbeschaffenheit. *Korrespondenz Abwasser* 40 (1993), 1503-1510
- ATV-FACHAUSSCHUSS KA-3: Adsorbierbare organisch gebundene Halogene (AOX) in der Indirekteinleiterüberwachung. *Korrespondenz Abwasser* 49 (2002), 1270-1276
- BADERSCHNEIDER, B.; WINTERHALTER, P.: Isolation and characterization of novel stilbene derivatives from Riesling wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 (2000), 2681-2686
- BADERSCHNEIDER, B.; WINTERHALTER, P.: Isolation and characterization of novel benzoates, cinnamates, flavonoids, and lignans from Riesling wine and screening for antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (2001), 2788-2798
- BAGLEY, D.; GOSSETT, J.: Chloroform Degradation in Methanogenic Methanol Enrichment Cultures and by *Methanosarcina barkeri* 227. *Applied and Environmental Microbiology* 61 (1995), 3195-3201
- BAHADIR, M.; PARLAR, H.; SPITELLER, M. (Hrsg.): *Springer Umweltlexikon*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2000), S. 262
- BARTON, D. A.; PAYNE, T. W.: Mechanisms of AOX removal during biological treatment. *Water Science and Technology* 40 (1999), 297-303
- BEELEN, v. P.: A review on the application of microbial toxicity test for deriving sediment quality guidelines. *Chemosphere* 53 (2003), 795-808
- BEKBOLET, M.; UYGUNER, C. S.; SELCUK, H.; RIZZO, L.; NIKOLAOU, A. D.; MERIC, S.; BELGIORNO, V.: Application of oxidative removal of NOM to drinking water and formation of disinfection by-products. *Desalination* 176 (2005), 155-166
- BELITZ, H. D.; GROSCH, W.: *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 4. Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (1992), S. 827
- BENANOU, D.; ACOBAS, F.; SZTAJNBOK, P.: Analysis of haloacetic acids in water by a novel technique: simultaneous extraction-derivatization. *Water Research* 32 (1998), 2798-2806
- BENANOU, D.: Applikation Twister. *Gerstel Aktuell* Nr. 30 (03-2003) (ISSN 1618-5900), 11
- BEZMAN, Y.; BILKIS, I.; WINTERHALTER, P.; FLEISCHMANN, P.; ROUSEFF, R.; BALDERMANN, B.; NAIM, M.: Thermal Oxidation of 9'-cis-Neoxanthin in a Model System Containing Peroxyacetic Acid Leads to the Potent Odorant –  $\beta$ -Damascenone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (2005), 9199-9206
- BHATTACHARYA, S. K.; ANGARA, R. V. R.; BISHOP, D. F., Jr.; DOBBS, R. A.; AUSTERN, B. M.: Removal and Fate of RCRA and CERCLA Toxic Organic Pollutants in Wastewater Treatment. *U.S. EPA, Cincinnati, OH, USA*. Report No. EPA-600/S2-89/026 (1990)

- BÖHM, E.; HILLENBRAND, T.; WALZ, R.; BORCHARDT, D.; HENKE, S.: *Maßnahmenplan Nachhaltige Wasserwirtschaft*. Umweltbundesamt, Forschungsbericht 297 21 707 (1999), S. 37, 128
- BONNLÄNDER, B.: *Isolierung, Charakterisierung und Synthese von Aromavorläufern aus Wein, Dillkraut und Lindenblüten*. Technische Universität Braunschweig, Dissertation (2002)
- BOOTH, R. A.; LESTER, J. N.: The potential formation of halogenated by-products during peracetic acid treatment of final sewage effluent. *Water Research* 29 (1995), S. 1793-1801
- BOWDEN, D. J.; CLEGG, S. L.; BRIMBLECOMBE, P.: The Henry's Law constants of the haloacetic acids. *Journal of Atmospheric Chemistry* 29 (1998), 85-107
- BUA-STOFFBERICHT: Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe (BUA) der Gesellschaft Deutscher Chemiker (Hrsg.): Tetrachlormethan. *BUA-Stoffbericht* 45 (1990), VCH Weinheim
- BUHRMESTER, C.; HAU, A.; FRINKE, U.: *Ertragslage Garten- und Weinbau 2006*. Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV), Reihe: Daten-Analysen (2006), S. 102-140
- BUTTERWORTH, B.: Letter to the Editor: Science-based risk assessments for drinking water disinfection by-products. *Environmental Research* 98 (2005), 276-278
- CRATHORNE, B.; FAWELL, J.; IRVING, T. E.; HARRIS, N.; DENNY, S.; WHITMORE, T.; HORTH, H.; RODDIE, B.; SMITH, D. J.; TAYLOR, L.: Sewage disinfection: By-product formation, ecotoxicology and microbiological efficacy. *WRc Report No 2727*. WRc Environment, Medmenham, Bucks (1991)
- CULLERÉ, L.; CACHO, J.; FERREIRA, V.: An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (2007), 876-881
- CURIEUX, F. L.; MARZIN, D.; ERB, F.: Study of the genotoxic activity of five chlorinated propanones using the SOS chromotest, the Ames-fluctuation test and the newt micronucleus test. *Mutation Research* 341 (1994), 1-15
- DIN EN 1485: Bestimmung adsorbierbarer organisch gebundener Halogene (AOX). *DEV* 37. Lieferung (1996)
- DIN EN ISO 10707: Bestimmung der vollständigen aeroben biologischen Abbaubarkeit organischer Stoffe in einem wäßrigen Medium. *DEV* 42. Lieferung (1998)
- DREWES, J.; JEKEL, M.: Behavior of DOC and AOX using advanced treated wastewater for groundwater recharge. *Water Research* 32 (1998), 3125-3133
- DROSS, A.; WITTKOWKI, R.: Chlorfreisetzende Reinigungs- und Bleichmittel als Verursacher von Chloroformrückständen im Wein. Mitteilung des BgVV, Berlin (1995)
- EHLSCHEID, T.; MEID, M.; THRUN, I.: *Gewässergüte der Mosel in Rheinland-Pfalz 1964 bis 2000*. Landesamt für Wasserwirtschaft Rheinland-Pfalz (Mainz), LfW-Bericht Nr. 202/02 (2002)
- EISENBRAND, G.; METZLER, M.; HENNECKE, F.: *Toxikologie für Naturwissenschaftler und Mediziner*. 3. Überarbeitete und aktualisierte Auflage, VCH Weinheim (2005)
- ELLIS, D.; HANSON, M.; SIBLEY, P.; SHAHID, T.; FINEBERG, N.; SOLOMON, K.; MUIR, D.; MABURY, S.: The fate and persistence of trifluoroacetic and chloroacetic acids in pond waters. *Chemosphere* 42 (2001), 309-318
- FENT, K.: *Ökotoxikologie – Umweltchemie, Toxikologie, Ökologie*. 2., überarbeitete und erweiterte Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart (2003), S. 167

FISCHER, C.; FISCHER, U.: Analysis of cork taint in wine and cork material at olfactory subthreshold levels by solid phase microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 (1997), 1995-1997

FOKUHL, I.: *Halogenorganische Verbindungen in Umweltkompartimenten*. Universität Oldenburg, Dissertation (1999)

FORUM DER DEUTSCHEN WEINWIRTSCHAFT: Leitlinien für eine gute Hygienepaxis in der Weinwirtschaft. *Der Deutsche Weinbau* (24) (2001), I-VII

FREER, P. C.; NOVY, F. G.: Formation, decomposition, and germicidal action of benzoyl and diacetyl peroxides. *American Chemical Journal* 27 (1902), 161-192

FÜRHACKER, M.: AOX-Bildung von Reinigungsmitteln und Natriumhypochlorit. *Österreichische Wasser- und Abfallwirtschaft* 50 (1998), 297-300

GOLDEN, R. J.; HOLM, S. E.; ROBINSON, D. E.; JULKUNEN, P. H.; REESE, E. A.: Chloroform Mode of Action: Implications for Cancer Risk Assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 26 (1997), 142-155

GREMM, T. J.; FRIMMEL, F. H.: Characterization of AOX by Fractionation Analysis and Size-exclusion Chromatography. *Acta hydrochimica et hydrobiologica* 28 (2000), 202-211

GRIMVALL, A.: *Natural Organochlorines in Precipitation and Surface Waters*. World Chlorine Council (1999), 2<sup>nd</sup> Edition, 7-8

HAMEL, E.: *Untersuchungen zum Verhalten von Schwermetallen in kommunalen Kläranlagen unter besonderer Berücksichtigung der Metallanreicherung in Belebtschlamm*. Universität Oldenburg, Dissertation (2001)

HANSON, M. L.; SIBLEY, P. K.; MABURY, S. A.; MUIR, D.; SOLOMON, K. R.: Field level evaluation and risk assessment of the toxicity of dichloroacetic acid to the aquatic macrophytes *Lemna gibba*, *Myriophyllum spicatum*, and *Myriophyllum sibiricum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 55 (2003), 46-63

HANSON, M. L.; SOLOMON, K. R.: Haloacetic acids in the aquatic environment. Part II: ecological risk assessment. *Environmental Pollution* 130 (2004), 385-401

HEIL, M.: *Ökochemische und ökotoxikologische Untersuchungen zur landbaulichen Verwertung von Weinbauabwasser*. Universität Kaiserslautern, Dissertation (1999)

HEISS, R.: *Lebensmitteltechnologie*. 5. Überarbeitete und erweiterte Auflage (1996), Springer Verlag Berlin. S. 403 f.

HEMMING, J.; HOLMBOM, B.; REUNANEN, M.; KRONBERG, L.: Determination of the strong mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone in chlorinated drinking and humic waters. *Chemosphere* 15 (1986), 549-556

HÖFL, C.; SIGL, G.; SPECHT, O.; WURDACK, I.; WABNER, D.: Oxidative degradation of AOX and COD by Different Advanced Oxidation Processes: A Comparative Study With two Samples of a Pharmaceutical Wastewater. *Water Science and Technology* 35 (1997), 257-264

HSIEH, C.-C.: Removal mechanisms of VOCs in an activated sludge process. *Journal of Hazardous Materials* 79 (2000), 173-187

ILLY, E.: Von der Bohne zum Espresso. *Spektrum der Wissenschaft* (05-2003), 82-87

JANDER, G.; JAHR, K. F.: *Maßanalyse*. 15. Auflage, Walter de Gruyter Verlag Berlin (1989), S. 189

- JUNHE, L.; HUIXIAN, Z.; CHENGYONG, Y.; ZIRUI, Y.; JINQI, Z.: Some problems in the detection of strong mutagen MX formed by chlorinating the aromatic acids and phenolic compounds. *Water Research* 36 (2002), 970-974
- JUUTI, S.; VARTIAINEN, T.; RUUSKANEN, J.: Formation of organochlorine compounds in kraft pulp bleaching processes. *Chemosphere* 33 (1996), 2431-2440
- KEYS, D. A.; SCHULTZ, I. R.; MAHLE, D. A.; FISHER, J. W.: A quantitative description of suicide inhibition of dichloroacetic acid in rats and mice. *Toxicological Sciences* 82 (2004), 381-393
- KIM, J.; CHUNG, Y.; SHIN, D.; KIM, M.; LEE, Y.; LIM, Y.; LEE, D.: Chlorination by-products in surface water treatment process. *Desalination* 151 (2003), 1-9
- KITIS, M.: Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. *Environmental International* 30 (2004), 47-55
- KNEPPER, T. P.; SACHER, F.; LANGE, F. T.; BRAUCH, H. J.; KARRENBROCK, F.; ROERDEN, O.; LINDNER, K.: Detection of polar organic substances relevant for drinking water. *Waste management* 19 (1999), 77-99
- KOPPE, P.: Organische Halogenverbindungen und Abwasserentsorgung. *Korrespondenz Abwasser* 31 (1984), 482-487
- KOPPE, P.; STOZEK, A.: *Kommunales Abwasser*. 3. Auflage (1993). Vulkan-Verlag Essen. In: FRIMMEL, F.: Wasser und Gewässer. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg (1999)
- KOUDJONOU, B. K.; LEBEL, G. L.: Halogenated acetaldehydes: Analysis, stability and fate in drinking water. *Chemosphere* 64 (2006), 795-802
- KRONBERG, L.; VERTIAINEN, T.: Ames mutagenicity and concentration of the strong mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone and of its geometric isomer E-2-chloro-3-(dichloromethyl)-4-oxobutenoic acid in chlorine-treated tap waters. *Mutation Research* 206 (1988), 177-182
- LASCHKA, D.: Beitrag der Wasch- und Reinigungsmittel zum AOX-Gehalt im kommunalen Abwasser. *Münchner Beitr. Abwasser-, Fischerei-, Flussbiol.* 44 (1990), S. 352-366
- LASCHKA, D.: AOX-Ringversuche an Industrieabwasser. *ATV-DVWK-Schriftenreihe* 18 (2000): Halogenorganische Verbindungen, 36-46
- LASCHKA, D.; KORDIK-KOLB, E.; DAOUTIS, T.; FREX, S.; WANZINGER, M.: *Identifizierung von durch den Summenparameter AOX erfassten Einzelsubstanzen in Abwässern*. Umweltbundesamt, Forschungsbericht 102 05 155 (1996), S. 47 ff.
- LEBEL, G. L.; BENOIT, F. M.: Chloral hydrate in Canadian drinking water. In: *Proceedings Water Quality Technology Conference AWWA-WQTC*, Salt Lake City, UT (2000), 86-98
- LEE, T. H.; SIMPSON, R. F.: Microbiology and chemistry of cork taints in wine. In: *Wine Microbiology and Biotechnology* (Fleet, G. H.; Editor) (1993), 353
- LETIZIA DAVÌ, M.; GNUDI, F.: Phenolic compounds in surface water. *Water Research* 33 (1999), 3213-3219
- LIPSCOMB, J. C.; BARTON, H. A.; TORNERO-VELEZ, R.; EVANS, M. V.; ALCASEY, S.; SNAWDER, J. E.; LASKEY, J.: The metabolic rate constants and specific activity of human and rat hepatic cytochrome P-450 2E1 toward toluene and chloroform. *Journal of Toxicology and Environmental Health A* 67 (2004), 537-553



- LIPSKI, A.: Organismen in Belebtschlamm. <http://www.biologie.uni-osnabrueck.de/Mikrobiologie/MikrobOekolSem/SS2002/belebtschlamm/org.html>. (2002), aktuell vom 15.03.2006
- McCLAY, K.; FOX, B.; STEFFAN, R.: Chloroform Mineralization by Toluene-Oxidizing Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 62 (1996), 2716-2722
- McHUGH LAW, J.; LOPEZ, L.; DEANGELO, A. B.: Hepatotoxicity of the drinking water disinfection by-product, dichloroacetic acid, in the medaka small fish model. *Toxicology Letters* 94 (1998), 19-27
- McRAE, B.; LAPARA, T.; HOZALSKI, R.: Biodegradation of haloacetic acids by bacterial enrichment cultures. *Chemosphere* 55 (2004), 915-925
- MEIER, J. R.; RINGHAND, W. E.; COLEMAN, W. E.; MUNCH, J. W.; STREICHER, R. P.; KAYLOR, W. H.; SCHENCK, K. M.: Identification of mutagenic compounds formed during chlorination of humic acid. *Mutation Research* 157 (1985), 111-122
- MÜLLER, D. H.: Weinbauabwässer – wohin damit? *Der Deutsche Weinbau* 15 (1993), 12-14
- MÜLLER, D. H.; HEIL, M.: Formation of AOX in winery wastewater as a result of active substances in cleaning and disinfecting agents. *Aventis 5<sup>th</sup> International Symposium on Cool Climate Viticulture & Oenology* (2000). Melbourne, Australia.
- NAMKUNG, E.; RITTMANN, B. E.: Estimating volatile organic compound (VOC) emissions from publically owned treatment works (POTWs). *Journal of the Water Pollution Control Federation* 59 (1987), 670-678
- NEITZEL, V.; ISKE, U.: *Abwasser – Technik und Kontrolle*. Wiley-VCH Weinheim, 1998
- NEWMAN, L.; WACKETT, L.: Fate of 2,2,2-Trichloroacetaldehyde (Chloral Hydrate) Produced during Trichloroethylene Oxidation by Methanotrophs. *Applied and Environmental Microbiology* 57 (1991), 2399-2402
- NIEDAN, V.; SCHÖLER, H. F.: Natural formation of chlorobenzoic acids (CBA) and distinction between PCB-degraded CBA. *Chemosphere* 35 (1997), 1233-1241
- NIKOLAOU, A. D.; LEKKAS, T. D.; GOLFINOPOULOS, S. K.: Kinetics of the formation and decomposition of chlorination by-products in surface waters. *Chemical Engineering Journal* 100 (2004), 139-148
- NOURALDEEN, A. M.; AHMED, A. E.: Studies on the Mechanisms of Haloacetonitrile-induced Genotoxicity IV: *In Vitro* Interaction of Haloacetonitriles with DNA. *Toxicology in Vitro* 10 (1996), 17-26
- NWEKE, A.; SCULLY, F. E.: Stable N-chloroaldehydes and other products of the chlorination of isoleucine in model solutions and in a wastewater. *Environmental Science and Technology* 23 (1989), 989-994
- OGILVIE, D. (Hrsg.): *Draft Guidelines for Drinking-water Quality Management for New Zealand*. Second Edition, Ministry of Health, New Zealand (2005)
- OKUDA, T.; NAM, S. Y.; LIM, J. L.; SHIN, H. S.: Improvement of thermal hydrolysis rate of dichloroacetic acid using alcohol. *Chemosphere* 53 (2003), 97-100
- OLANIRAN, A.; BABALOLA, G.; OKOH, A.: Aerobic dehalogenation potentials of four bacterial species isolated from soil and sewage sludge. *Chemosphere* 45 (2001), 45-50
- OTTOW, J.; BIDLINGMAIER, W.: *Umweltbiotechnologie*. Fischer Verlag Stuttgart (1997), S. 68-74

- RECKHOW, D.; SINGER, C.; MALCOLM, R.: Chlorination of Humic Materials: Byproduct Formation and Chemical Interpretations. *Environmental Science and Technology* 24 (1990), 1655-1664
- RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. (Hrsg.): *Handbook of Enology*. Vol. 2. The Chemistry of Wine, Wiley-VCH Weinheim (2000), S. 84
- RICHARDSON, S.: Disinfection by-products and other emerging contaminants in drinking water. *Trends in Analytical Chemistry* 22 (2003), 666-684
- SADIQ, R.; RODRIQUEZ, M.: Disinfection by-products (DBPs) in drinking water and predictive models for their occurrence: a review. *Science of the Total Environment* 321 (2004), 21-46
- SAVANT, D. V.; ABDUL-RAHMAN, R.; RANADE, D. R.: Anaerobic degradation of adsorbable organic halides (AOX) from pulp and paper industry wastewater. *Bioresource Technology* 97 (2006), 1092-1104
- SCHOWANEK, D.; RACIOPPI, F.; MATTHIJS, E.; BOYKO, R.; GABBA, M.; BUSCHINI, A.; GARDINI, G. P.: Quantitative *in situ* monitoring of organohalogen compounds in domestic sewage resulting from the use of hypochlorite bleach. *Water Research* 30 (1996), 2193-2205
- SCHRÖDER, H.: Chlorinated Hydrocarbons in Biological Sewage Purification – Fate and Difficulties in Balancing. *Water Science and Technology* 19 (1987), S. 429-438
- SCHRÖDER, H.; OSTERHORN, S.; FLÖSER, V.: AOX im Krankenhausabwasser. *Das Gas- und Wasserfach* 01 (1999), 20-26
- SCHRÖDER, K.; SCHMIDT, W.: *Qualitative Abschätzung und quantitative Ermittlung von Emissionen ausgewählter Stoffe relevanter EU-Richtlinien aus kommunalen Abwasseranlagen im Freistaat Sachsen*. DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW) Karlsruhe, Abschlussbericht FuE-Vorhaben (2003)
- SCHULZ, S.: *Der Kanal als Reaktor: Neubildung von AOX durch Wirkstoffe in Reinigungsmitteln*. Universität Karlsruhe, Dissertation (1998)
- SCHULZE-RETTMER, R.: Ist der AOX noch sinnvoll? *KA: Abwasser, Abfall* 48 (2001), 1602-1614
- SCHWAB, A. L.: Differentiation of winegrape maturity and of must contents of early and late ripening white grapevine varieties under minimal pruning conditions. *GESCO-Proceedings* (2005), S. 3
- SIMMONS, J. E.; TEUSCHLER, L. K.; GENNINGS, C.; SPETH, T. F.; RICHARDSON, S. D.; MILTNER, R. J.; NAROTSKY, M. G.; SCHENCK, K. D.; HUNTER, E. S.; HERTZBERG, R. C.; RICE, G.: Component-based and whole-mixture techniques for addressing the toxicity of drinking-water disinfection by-product mixtures. *Journal of Toxicology and Environmental Health A* 67 (2004), 741-754
- SOLEAS, G. J.; DIAMANDIS, E. P.; GOLDBERG, D. M.: Wine as a biological fluid: History, production, and role in disease prevention. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 11 (1997), 287-313
- SPONHOLZ, W. R.: Der Traubenmost. In: WÜRDIG, G.; WOLLER, R. (Hrsg.): *Chemie des Weines*. 1. Auflage, Verlag Eugen Ulmer Stuttgart (1989), S. 101
- STRUJIS, J.: SimpleTreat 3.0: a model to predict the distribution and elimination of chemicals by sewage treatment plants. *National Institute of Public Health and the Environment*. Report No. 719101025 (1996), Bilthoven, The Netherlands

- TAKAHASHI, Y.; ONODERA, S.; MORITA, M.; TERAOKA, Y.: A Problem in the Determination of Trihalomethane by Headspace-Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Journal of Health Science* 49 (2003), 1-7
- TÖPFER, A.: *Entwicklung einer Screeninganalyse zum Nachweis von Fruchtsaftverfälschungen mittels Fruchtsäure-Aminosäure-Fingerprints durch Gaschromatographie-Massenspektrometrie am Beispiel von Apfelsaft*. Technische Universität Berlin, Dissertation (1999)
- VAN HYLCKAMA Vlieg, J.; JANSSEN, D.: Formation and detoxification of reactive intermediates in the metabolism of chlorinated ethenes. *Journal of Biotechnology* 85 (2001), 81-102
- VAN LUIN, A. B.; VAN STARKENBURG, W.: Hazardous Substances in Waste Water. *Water Science and Technology* 17 (1985), 843-853
- VESCHETTI, E.; CUTILLI, D.; BONADONNA, L.; BRIANCESCO, R.; MARTINI, C.; CECCHINI, G.; ANASTASI, P.; OTTAVIANI, M.: Pilot-plant comparative study of peracetic acid and sodium hypochlorite wastewater disinfection. *Water Research* 37 (2003), 78-94
- VIGHI, M.; GRAMATICA, P.; CONSOLARO, F.; TODESCHINI, R.: QSAR and Chemometric Approaches for Setting Water Quality Objectives for Dangerous Chemicals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 49 (2001), 206-220
- WAHMAN, D.; KATZ, L.; SPEITEL, G. Jr.: Cometabolism of Trihalomethanes by *Nitrisomonas europaea*. *Applied and Environmental Microbiology* 71 (2005), 7980-7986
- WALLHÄUSSER, K. H.: *Praxis der Sterilisation: Desinfektion – Konservierung*. 5. völlig überarbeitete Auflage; Georg Thieme Verlag Stuttgart (1995), S. 395
- WERRES, F.; STIEN, J.; BALSAA, P.; SCHNEIDER, A.; WINTERHALTER, P.; OVERATH, H.: Automatisierte Bestimmung polarer Arzneimittelrückstände in Wässern mittels Festphasenmikroextraktion (SPME) und Derivatisierung. *Vom Wasser* 94 (2000), 135-147
- WHO WORLD HEALTH ORGANISATION: *Guidelines for drinking water quality*. 2<sup>nd</sup> edition, Volume 1 (1994): Recommendations, Geneva
- WILLIAMS, D. T.; LEBEL, G. L.; BENOIT, F. M.: Disinfection by-products in Canadian drinking water. *Chemosphere* 34 (1997), 299-316
- XU, X.; ZOU, HX.; ZHANG, JQ.: Formation of strong mutagen [3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone] MX by chlorination of fractions of lake water. *Water Research* 31 (1997), 1021-1026
- YOUNG, W. F.: *Mechanisms of Carcinogenicity: Disinfection by-products*. Foundation for water research. Research Report FWR No. FR0372 (1993)
- ZHANG, X.; MINEAR, R. A.; GUO, Y.; HWANG, C. J.; BARRETT, S. E.; IKEDA, K.; SHIMIZU, Y.; MATSUI, S.: An electrospray ionization-tandem mass spectrometry method for identifying chlorinated drinking water disinfection by-products. *Water Research* 38 (2004), 3920-3930

## Anhang

### A.I Darstellung von AOX-Bildungssituationen

Tab. A.I.1: Bildung von AOX (in µg/l) / Reinigungsvorgänge bei 4°C (n = 2)

Org. Komp. [%]	c (NaOCl) [g/l]			
	0,365	1,46	3,65	14,6
RW 4%	520,3	1083,8	3695,6	7951,7
RW 10%	2881,5	5573,3	4389,6	15626,4
RW 20%	5769,6	16733,5	17063,6	17218,2
WW 4%	379,9	783,4	1882,246	1930,0
WW 10%	1884,5	2319,7	3904,5	4073,4
WW 20%	2434,9	6534,2	15719,4	18799,5
Most 4%	2243,6	2321,4	3341,6	3904,8
Most 10%	7091,6	7370,3	6452,7	7680,0
Most 20%	6387,9	19232,9	21351,7	36827,4
HT 1%	12233,4	12741,4	15998,8	16457,0
HT 8%	13209,9	80327,0	119404,0	186842,2

Tab. A.I.2: Bildung von AOX (in µg/l) / Reinigungsvorgänge bei 30°C (n = 2)

Org. Komp. [%]	c (NaOCl) [g/l]			
	0,365	1,46	3,65	14,6
RW 4%	7556,8	10392,5	14126,8	21518,8
RW 10%	19195,6	39324,7	40364,0	34436,7
RW 20%	17232,4	27398,3	48312,3	59390,0
WW 4%	4652,1	9337,6	15426,0	20311,7
WW 10%	15787,4	39218,4	41054,6	42890,8
WW 20%	19319,9	40611,2	41853,8	43112,3
Most 4%	5302,1	11313,2	16418,8	33415,9
Most 10%	18614,1	77583,9	126558,0	148116,5
Most 20%	11739,8	76532,4	112946,1	190095,2
HT 1%	11702,3	27849,8	27639,7	19333,2
HT 8%	14553,6	74634,0	82777,6	288215,5



Tab. A.I.3: Bildung von AOX (in  $\mu\text{g/l}$ ) in den Modell-Lösungen zur Simulation von Abwassersammeltank und -kanal (n = 2)

Org. Komp. [%]	c (NaOCl) [g/l]			
	0,0365	0,091	0,183	0,365
RW 1%	1657,3	2327,9	2634,0	2743,9
RW 3%	470,8	3100,2	6225,8	6690,8
RW 5%	1239,0	3367,3	6030,2	7952,1
WW 1%	188,0	455,9	1326,8	1703,7
WW 3%	1380,6	1629,4	7487,2	8371,0
WW 5%	1705,7	2741,4	6710,8	8463,7
Most 1%	729,7	2785,2	5746,5	6353,6
Most 3%	2004,3	2253,2	5930,7	12836,4
Most 5%	992,0	2191,5	4232,4	12975,1
HT 0,1%	4211,3	8433,5	17114,5	28083,4
HT 1%	4342,5	10635,4	18780,7	29841,7
HT 2%	7481,1	6280,2	21641,0	32357,6

Tab. A.I.4: Bildung von AOX bei verschiedenen Peroxyessigsäure-Konzentrationen PES  
(c (NaCl) = 0,2 g/l, T = 30°C, t = 24 h)

c (PES) [g/l]	AOX [ $\mu\text{g/l}$ ]	AOX (als Cl) [ $\mu\text{mol/l}$ ]	c (Cl/eingesetzt) [mmol/l]	Umsetzung NaCl zu AOX [%]
0,36	31,8	0,897	3,42	0,026
0,91	30,4	0,858	3,42	0,025
1,82	5,8	0,164	3,42	0,005
3,65	16,8	0,474	3,42	0,014
5,47	14,4	0,406	3,42	0,012
10,54	7,8	0,220	3,42	0,006

Tab. A.I.5: Bildung von AOX bei verschiedenen Peroxyessigsäure-Konzentrationen PES  
(c (NaCl) = 0,2 g/l, T > 100°C, t = 5 min)

c (PES) [g/l]	AOX [ $\mu\text{g/l}$ ]	AOX (als Cl) [ $\mu\text{mol/l}$ ]	c (Cl/eingesetzt) [mmol/l]	Umsetzung NaCl zu AOX [%]
0,36	60,8	1,7	3,42	0,05
0,91	392,3	11,1	3,42	0,32
1,82	538,6	15,2	3,42	0,44
3,65	1088,9	30,7	3,42	0,90
5,47	1595,6	45,0	3,42	1,32

Tab. A.I.6: Bildung von AOX bei verschiedenen NaCl-Konzentrationen (c (Peroxyessigsäure) = 1,824 g/l, T > 100°C, t = 5 min)

c (NaCl) [g/l]	AOX [ $\mu\text{g/l}$ ]	AOX (als Cl) [ $\mu\text{mol/l}$ ]	c (Cl/eingesetzt) [mmol/l]	Umsetzung NaCl zu AOX [%]
0,1	462,4	13,0	1,71	0,76
0,2	538,6	15,2	3,42	0,44
0,5	1045,9	29,5	8,56	0,34
1	983,3	27,7	17,11	0,16
2	1219,8	34,4	34,22	0,10

Tab. A.I.7: Fraktionierung von AOX

	c (AOX) [ $\mu\text{g/l}$ ]			
	Messreihe 1	Messreihe 2	Messreihe 3	Messreihe 4
Fraktion 1	2,5	28,3	6,0	5,5
Fraktion 2	3,3	52,1	1,8	3,1
Fraktion 3	8,9	372,1	3,4	9,2
Fraktion 4	13,5	191,1	4,0	6,8
Fraktion 5	3,2	50,3	1,6	2,0
Blindwert	1,6	2,4	1,5	0,9

## A.II Untersuchung halogener Substanzen in Simulations-Versuchen

Tab. A.II.1: Konzentrationen von Chloroform in Modell-Versuchen

	c (CHCl <sub>3</sub> ) [mg/l]				
	c (NaOCl) = 14,6 g/l, T = 4°C		T = 30°C		
RW 4%	0,9	0,9	3,7	4,7	4,9
RW 10%	4,7	2,5	27,0		28,6
RW 20%	5,2	4,6	13,1	10,8	32,4
WW 4%	1,7	1,7	1,1		2,5
WW 10%	4,9	4,8	12,5		12,3
WW 20%	12,7	11,3	15,0		13,3
Most 4%	0,2	0,2	0,8		0,5
Most 20%	1,4	1,8	1,5		1,5
HT 1%	1,5	2,3	2,5	5,0	9,7
HT 8%	10,6	17,1	4,8	8,2	5,6
				3,0	20,3
	c (NaOCl) = 1,46 g/l, T = 4°C		T = 30°C		
RW 4%	1,1	1,0	1,5		1,4
RW 10%	1,2	4,0	5,5		2,7
RW 20%	5,6	5,6	8,1		8,0
WW 4%	0,2	0,3	0,7		0,7
WW 10%	0,9	1,0	1,0		1,5
WW 20%	3,4	3,3	4,6		
Most 20%	0,4	1,3	2,8		0,5
HT 1%	4,7	4,8	1,7		1,8
HT 8%	4,7	4,6	1,8		4,5

Tab. A.II.2: Konzentrationen von Dichloressigsäure (DCA) in Modell-Versuchen (n = 3)

	<b>c (DCA) [mg/l]</b>	
	c (NaOCl) = 14,6 g/l, T = 4°C	T = 30°C
RW 4%	10,3	57,7
RW 10%	27,7	214,8
RW 20%	49,3	570,6
WW 4%	8,1	106,6
WW 10%	62,5	111,3
WW 20%	165,0	131,2
Most 4%	6,1	78,4
Most 10%	30,4	63,2
Most 20%	56,2	59,0
HT 1%	47,9	118,4
HT 8%	416,4	171,4
	c (NaOCl) = 1,46 g/l, T = 4°C	T = 30°C
RW 4%	6,6	15,0
RW 10%	12,1	37,2
RW 20%	23,4	94,3
WW 4%	5,2	45,9
WW 10%	14,0	52,1
WW 20%	27,9	114,2
Most 4%	3,6	26,1
Most 10%	9,0	56,2
Most 20%	18,9	91,9
HT 1%	10,6	46,1
HT 8%	13,5	21,7

Tab. A.II.3: Konzentrationen von Trichloracetaldehyd (TCAA) in Modell-Versuchen bei 4°C

	c (TCAA) [mg/l]			
	c (NaOCl) = 14,6 g/l		c (NaOCl) = 3,65 g/l	
RW 4%	11,6	11,8	0,4	0,4
RW 10%	9,7	9,1	0,2	0,2
RW 20%	9,4	19,5	1,4	0,3
WW 4%	10,1	14,1	1,4	0,8
WW 10%	5,9		1,7	1,4
WW 20%	1,9	4,7	2,7	2,1
HT 1%	2,8	5,5	0,5	0,6
HT 8%	5,8	3,9	0,8	0,9
	c (NaOCl) = 1,46 g/l		c (NaOCl) = 0,365 g/l	
RW 4%	0,4	0,3	0,1	0,1
RW 10%	0,7	0,8	n.n.	n.n.
RW 20%	0,2	0,2	n.n.	n.n.
WW 4%	1,7	0,6	0,3	0,1
WW 10%	2,5	3,1	0,2	0,2
WW 20%	2,4	2,8	n.n.	n.n.
HT 1%	0,5	0,6	n.n.	n.n.
HT 8%	0,1	0,1	n.n.	n.n.

Tab. A.II.4-1: Konzentrationen von Trichloracetaldehyd in Modell-Versuchen bei 30°C

	c (TCAA) [mg/l]			
	c (NaOCl) = 14,6 g/l		c (NaOCl) = 3,65 g/l	
RW 4%	35,8	44,4	73,7	140,6
RW 10%	35,0		36,6	120,1
RW 20%	35,6	58,6	78,1	4,2
WW 4%	101,1	155,7	66,3	174,0
WW 10%	262,6	391,0	169,1	151,0
WW 20%	108,8		208,6	22,4
HT 1%	57,5		45,0	29,1
HT 8%	59,0		39,1	7,6

Tab. A.II.4-2: Konzentrationen von Trichloracetaldehyd in Modell-Versuchen bei 30°C  
(Fortsetzung)

	c (TCAA) [mg/l]			
	c (NaOCl) = 1,46 g/l		c (NaOCl) = 0,365 g/l	
RW 4%	18,4	29,3	1,1	1,7
RW 10%	2,8	2,9	0,1	0,1
RW 20%	4,9	2,8	n.n.	n.n.
WW 4%	67,1	51,9	21,4	33,0
WW 10%	97,6   183,0	86,8   122,5	3,6	6,6
WW 20%	6,1	6,2	0,3	0,3
HT 1%	2,4	2,5	0,4	0,4
HT 8%	0,3	0,4	0,1	0,1

Tab. A.II.5: Konzentrationen von 1,1,1-Trichlorpropanon (TCP) in Modell-Versuchen bei 4°C

	c (TCP) [mg/l]			
	c (NaOCl) = 14,6 g/l		c (NaOCl) = 3,65 g/l	
RW 4%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RW 10%	n.n.	n.n.	0,3	0,3
RW 20%	0,5	1,3	1,8	2,2
WW 4%	n.n.	n.n.	0,2	0,2
WW 10%	n.n.	n.n.	0,8	0,7
WW 20%	0,6	1,8	4,1	5,6
HT 1%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
HT 8%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	c (NaOCl) = 1,46 g/l		c (NaOCl) = 0,365 g/l	
RW 4%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RW 10%	0,5	0,3	n.n.	n.n.
RW 20%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
WW 4%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
WW 10%	0,3	0,3	n.n.	n.n.
WW 20%	0,8	0,6	n.n.	n.n.
HT 1%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
HT 8%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

Tab. A.II.6: Konzentrationen von 1,1,1-Trichlorpropanon (TCP) in Modell-Versuchen bei 30°C

	c (TCP) [mg/l]			
	c (NaOCl) = 14,6 g/l		c (NaOCl) = 3,65 g/l	
RW 4%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RW 10%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RW 20%	n.n.	n.n.	1,4	1,3
WW 4%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
WW 10%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
WW 20%	n.n.	n.n.	1,0	0,9
HT 1%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
HT 8%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	c (NaOCl) = 1,46 g/l		c (NaOCl) = 0,365 g/l	
RW 4%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RW 10%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RW 20%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
WW 4%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
WW 10%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
WW 20%	1,7	1,5	n.n.	n.n.
HT 1%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
HT 8%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

Tab. A.II.7-1: Konzentrationen von 2-Chlorphenylessigsäure (CPE) und 2,4-Dichlorphenylessigsäure (DCPE) in Modell-Versuchen bei 4°C (Mittelwerte aus 2 Bestimmungen)

	c (CPE) [µg/l]		c (DCPE) [µg/l]	
	c (NaOCl) = 14,6 g/l			
RW 4%	5,1	2,8	n.n.	n.n.
RW 10%	5,1	n.n.	n.n.	n.n.
RW 20%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
WW 4%	1,5	4,1	n.n.	n.n.
WW 10%	1,3	5,1	n.n.	n.n.
WW 20%	16,4	23,6	n.n.	n.n.
HT 1%	68,5	31,0	17,4	3,5
HT 8%	78,0	78,2	n.n.	n.n.

Tab. A.II.7-2: Konzentrationen von chlorierten Phenylelessigsäuren in Modell-Versuchen bei 4°C (Mittelwerte aus 2 Bestimmungen) (Fortsetzung)

	c (CPE) [µg/l]		c (DCPE) [µg/l]	
	c (NaOCl) = 1,46 g/l			
RW 4%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RW 10%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RW 20%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
WW 4%	1,4	n.n.	n.n.	n.n.
WW 10%	3,2	n.n.	n.n.	n.n.
WW 20%	2,0	n.n.	n.n.	n.n.
HT 1%	1,8	1,7	n.n.	n.n.
HT 8%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

Tab. A.II.8: Konzentrationen von chlorierten Phenylelessigsäuren in Modell-Versuchen bei 30°C (Mittelwerte aus 2 Bestimmungen)

	c (CPE) [µg/l]		c (DCPE) [µg/l]	
	c (NaOCl) = 14,6 g/l			
RW 4%	0,5	8,5	0,9	2,3
RW 10%	4,9	1,0	n.n.	n.n.
RW 20%	3,5	2,7	n.n.	n.n.
WW 4%	8,0	7,6	1,0	0,8
WW 10%	1,5	13,3	0,2	1,3
WW 20%	9,8	8,6	n.b.	n.n.
HT 1%	3,6	0,3	0,5	n.n.
HT 8%	4,3	5,4	0,4	0,3
	c (NaOCl) = 1,46 g/l			
RW 4%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RW 10%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RW 20%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
WW 4%	0,5	n.n.	n.n.	n.n.
WW 10%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
WW 20%	1,9	1,3	n.n.	n.n.
HT 1%	0,3	0,3	n.n.	n.n.
HT 8%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.



Tab. A.II.9: Konzentration an 2,4-Dichlorbenzoesäure (DCB) in Modell-Versuchen  
(Mittelwerte aus 2 Bestimmungen)

	c (DCB) [µg/l]		c (DCB) [µg/l]	
	c (NaOCl) = 14,6 g/l, T = 4°C		T = 30°C	
RW 4%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RW 10%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RW 20%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
WW 4%	3,0	3,2	n.n.	n.n.
WW 10%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
WW 20%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
HT 1%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
HT 8%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	c (NaOCl) = 1,46 g/l, T = 4°C		T = 30°C	
RW 4%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RW 10%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RW 20%	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
WW 4%	n.n.	n.n.	n.n.	0,5
WW 10%	n.n.	n.n.	0,4	0,6
WW 20%	n.n.	n.n.	0,2	n.n.
HT 1%	n.n.	n.n.	0,5	0,6
HT 8%	1,4	1,1	n.n.	n.n.

### A.III Verhalten von freien Aminosäuren während der Desinfektion

Tab. A.III.1-1: Umsetzung von Phenylalanin zu Phenylacetaldehyd und Phenylacetonitril bei 4°C

c (Phenylalanin) [mg/l]	c (Phenylacetaldehyd [mg/l]	c (Phenylacetonitril) [mg/l]
	c (NaOCl) = 14,6 g/l	
600	11,6	168,7
100	2,0	23,3
50	0,7	10,3
40	0,6	8,2
20	0,1	2,9
10	n.n.	1,3

Tab. A.III.1-2: Umsetzung von Phenylalanin zu Phenylacetaldehyd und Phenylacetonitril bei 4°C  
(Fortsetzung)

c (Phenylalanin) [mg/l]	c (Phenylacetaldehyd [mg/l]	c (Phenylacetonitril) [mg/l]
600 100 50 40 20 10	c (NaOCl) = 1,46 g/l	
	126,4	164,1
	37,0	25,1
	16,	10,5
	8,9	7,5
	5,2	3,0
	1,8	1,3
600 100 50 40 20 10	c (NaOCl) = 1,5-facher molarer Überschuss	
	13,6	199,2
	15,2	29,1
	6,5	11,8
	4,8	9,6
	3,7	3,3
	2,0	1,1

Tab. A.III.2-1: Umsetzung von Phenylalanin zu Phenylacetaldehyd und Phenylacetonitril bei 30°C

c (Phenylalanin) [mg/l]	c (Phenylacetaldehyd [mg/l]	c (Phenylacetonitril) [mg/l]
600 100 50 40 20 10	c (NaOCl) = 14,6 g/l	
	n.n.	154,9
	n.n.	30,2
	n.n.	9,4
	n.n.	6,9
	n.n.	2,8
	n.n.	1,1
600 100 50 40 20 10	c (NaOCl) = 1,46 g/l	
	44,3	182,8
	36,9	31,2
	6,2	13,3
	4,2	9,3
	2,2	5,1
	0,7	2,2

Tab. A.III.2-2: Umsetzung von Phenylalanin zu Phenylacetaldehyd und Phenylacetonitril bei 30°C (Fortsetzung)

c (Phenylalanin) [mg/l]	c (Phenylacetaldehyd [mg/l]	c (Phenylacetonitril) [mg/l]
	c (NaOCl) = 1,5-facher molarer Überschuss	
600	11,9	214,9
100	26,7	20,1
50	13,8	7,8
40	11,5	6,6
20	6,0	1,8
10	3,0	0,4

#### A.IV Zusammensetzung von AOX

Tab. A.IV.1: Wiederfindung von Chloroform, Dichloressigsäure (DCA) und Trichloracetaldehyd (TCAA) als AOX

c (als Cl) [µg/l]	c (AOX) [µg/l]		
	Messreihe 1	Messreihe 2	Messreihe 3
<b>CHCl<sub>3</sub></b>			
52,7	46,4	14,6	30,5
105,5	59,2	34,6	46,9
158,2	84,4	69,1	76,8
211,0	148,3	75,3	111,8
263,7	152,2	76,8	152,2
<b>DCA</b>			
50,5	22,8	20,0	21,4
101,0	21,9	25,6	23,7
151,6	39,3	31,6	35,4
202,1	49,1	41,7	45,4
252,6	70,3	54,4	62,3
<b>TCAA</b>			
54,8	42,7	56,8	49,8
109,7	106,8	85,7	96,2
164,5	135,4	137,3	136,3
219,4	211,5	145,3	178,4
274,2	271,2	213,3	242,2

### A.V Untersuchung halogener Substanzen während der Weinlese

Tab. A.V.1: Chloroform- und Dichloressigsäure (DCA)-Gehalte der Proben aus dem Weinbau-Betrieb

Probe	c (CHCl <sub>3</sub> ) [mg/l]	Ø (CHCl <sub>3</sub> ) [mg/l]	c (DCA) [mg/l]	Ø (DCA) [mg/l]
1	578,0	568,2	97,6	95,0
	558,3		92,4	
2	674,7	621,2	123,2	139,3
	567,6		155,3	
3	659,2	638,5	132,5	134,0
	617,7		135,4	
4	594,9	631,1	133,3	126,9
	667,2		120,4	
5	655,4	659,8	136,4	139,0
	664,1		141,6	
6	703,4	684,9	122,9	125,0
	666,3		127,0	
7	607,3	629,6	131,5	131,7
	651,9		131,9	
8	665,7	631,0	115,7	114,9
	596,2		114,0	

Tab. A.V.2: Gehalte an Trichloracetaldehyd (TCAA), 1,1,1-Trichlorpropanon (TCP), Chlorkiprin (CP) und Dichloracetonitril (DCAN) in Abwässern aus einem Weinbau-Betrieb

Probe	c (TCAA) [mg/l]	Ø	c (TCP) [mg/l]	Ø	c (CP) [mg/l]	Ø	c (DCAN) [mg/l]	Ø
1	13,6	13,8	3,6	3,7	2,6	2,7	0,5	0,5
	14,0		3,7		2,8		0,4	
2	11,5	12,5	2,6	3,0	1,8	2,0	0,2	0,3
	13,4		3,4		2,2		0,4	
3	2,8	3,1	3,3	3,9	2,2	2,3	0,5	0,4
	3,3		4,4		2,3		0,3	

Tab. A.V.3: Gehalte an aromatischen Säuren in Abwässern aus einem Weinbau-Betrieb

Probe	c (CPE) [mg/l]	Ø	c (DCPE) [mg/l]	Ø	c (CB) [mg/l]	Ø
1	50,9	48,4	17,6	19,6	4,6	3,5
	45,8		21,5		2,4	
2	30,3	32,1	8,4	9,6	1,2	1,6
	33,9		10,8		2,0	
3	34,7	41,3	17,8	21,1	1,7	2,2
	47,9		24,4		2,6	

Tab. A.V.4: Gehalte an Chloroform in Abwässern der Kläranlage Niederkirchen

Datum	c (CHCl <sub>3</sub> ) [µg/l]		Datum	c (CHCl <sub>3</sub> ) [µg/l]	
06.09.	n.n.	n.n.	29.09.	3,1	3,4
07.09.	n.n.	n.n.	02.10.	7,1	7,0
08.09.	n.n.	n.n.	03.10.	5,2	2,2
11.09.	1,2	1,5	04.10.	8,3	5,3
12.09.	1,9	1,6	05.10.	5,1	3,6
13.09.	n.n.	1,8	06.10.	5,8	4,0
14.09.	2,3	2,4	09.10.	2,9	2,1
15.09.	n.n.	n.n.	10.10.	3,2	2,2
18.09.	n.n.	n.n.	11.10.	1,9	2,7
19.09.	8,5	5,9	12.10.	2,2	3,2
20.09.	2,6	n.n.	13.10.	3,2	2,2
21.09.	n.n.	n.n.	16.10.	n.n.	n.n.
22.09.	1,2	n.n.	17.10.	3,5	2,4
25.09.	1,1	1,4	18.10.	1,4	1,0
26.09.	2,2	2,6	19.10.	3,1	2,2
27.09.	3,3	4,9	20.10.	n.n.	n.n.
28.09.	0,9	1,3	23.10.	n.n.	n.n.

Tab. A.V.5: Gehalte an Chloroform in Abwässern der Kläranlage Neustadt/Weinstraße

Datum	c (CHCl <sub>3</sub> ) [µg/l]		Wasservolumen [m <sup>3</sup> ]
	Zulauf	Ablauf	
27.09.	n.n.	n.n.	13460
28.09.	n.n.	n.n.	9870
29.09.	n.n.	n.n.	8940
02.10.	3,4	n.n.	10434
03.10.	3,5	3,9	32460
04.10.	n.n.	n.n.	39260
05.10.	n.n.	1,9	12380
06.10.	n.n.	1,8	11470
09.10.	2,1	n.n.	9970
10.10.	n.n.	n.n.	11150
11.10.	2,3	2,7	9970
12.10.	2,6	3,7	10040
13.10.	1,6	3,0	9450
16.10.	n.n.	n.n.	9810
17.10.	1,6	1,3	9650
18.10.	n.n.	n.n.	8960
19.10.	n.n.	1,5	10280
20.10.	n.n.	n.n.	8700
23.10.	n.n.	n.n.	12820
24.10.	n.n.	n.n.	36728
25.10.	n.n.	n.n.	13622

Tab. A.V.6: Prozentuale Abnahme von Dichloressigsäure (DCA) über Bestimmung des Sauerstoffbedarfs

t [d]	c/c <sub>0</sub> (DCA) [%]			
	pH = 7			
0	100	100	100	100
7	69,8	89,9	100	79,8
14	49,6	29,4	29,4	n.n.
21	68,8	29,4	29,4	n.n.
28	49,6	29,4	29,4	n.n.

Tab. A.V.7: Prozentuale Abnahme von Dichloressigsäure / GC-MS-Bestimmung

t [d]	c/c <sub>0</sub> (DCA) [%]		
	<b>pH = 7</b>		
0	100	100	100
7	34,4	67,0	7,1
14	42,0	30,7	4,4
21	30,1	2,4	n.n.
28	25,0	4,8	n.n.
	<b>pH = 4</b>		
0	100	100	100
7	20,3	24,6	4,4
14	9,2	0,8	2,0
21	17,5	0,3	n.n.
28	17,9	n.n.	n.n.
	<b>pH = 10</b>		
0	100	100	100
7	80,7	101,3	37,9
14	46,9	41,3	44,0
21	66,4	0,6	0,5
28	20,24	n.n.	n.n.

Tab. A.V.8: Prozentuale Abnahme von Trichloracetaldehyd (TCAA) über Bestimmung des Sauerstoffbedarfs

t [d]	c/c <sub>0</sub> (TCAA) [%]			
	<b>pH = 7</b>			
0	100	100	100	100
7	69,8	69,8	53,9	30,9
14	42,4	19,4	19,4	19,4
21	n.n.	65,4	n.n.	63,4
28	42,4	42,4	63,4	n.n.

Tab. A.V.9: Prozentuale Abnahme von Trichloracetaldehyd / GC-MS-Bestimmung

t [d]	c/c <sub>0</sub> (TCAA) [%]			
	<b>pH = 7</b>			
0	100	100	100	100
7	109,8	29,7	49,2	68,4
14	7,3	23,7	41,4	53,5
21	2,3	13,2	30,0	36,5
28	1,0	4,8	3,1	5,4
	<b>pH = 4</b>			
0	100	100	100	100
7	63,8	98,4	89,4	79,1
14	106,2	52,6	92,9	59,5
21	66,4	50,9	97,3	95,8
28	61,2	96,4	101,0	129,9
	<b>pH = 10</b>			
0	100	100	100	100
7	n.n.	n.n.	2,6	4,6
14	n.n.	4,7	n.n.	n.n.
21	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
28	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

Tab. A.V.10-1: Gehalte an 2-Chlorphenylessigsäure (CPE) und 2,4-Dichlorphenylessigsäure (DCPE) in Abläufen der Kläranlage Niederkirchen

Datum	c (CPE) [µg/l]		c (DCPE) [µg/l]	
09.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
10.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
11.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
12.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
13.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
16.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
17.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
18.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
19.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
20.10.	3,6	17,2	6,6	27,3
23.10.	12,6	n.b.	20,0	n.b.



Tab. A.V.10-2: Gehalte an chlorierten Phenylelessigsäuren in Abläufen der Kläranlage Niederkirchen (Fortsetzung)

Datum	c (CPE) [µg/l]		C (DCPE) [µg/l]	
24.10.	3,5	3,7	5,2	57,3
25.10.	1,4	2,0	1,8	n.n.
26.10.	17,2	n.n.	16,6	n.n.
27.10.	16,1	20,7	22,4	29,8
30.10.	6,6	7,2	7,5	9,9
31.10.	3,4	3,0	4,3	3,9
01.11.	1,4	1,6	1,5	1,5
02.11.	0,9	1,2	1,4	1,3
03.11.	0,5	0,7	1,3	1,1
06.11.	0,5	0,4	0,9	1,0
07.11.	0,2	0,4	0,6	0,5
08.11.	0,3	0,2	0,1	0,2
09.11.	0,2	0,2	0,2	0,3
10.11.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
13.11.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
14.11.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
15.11.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

Tab. A.V.11-1: Gehalte an 2-Chlorbenzoesäure (CB) und 2,4-Dichlorbenzoesäure (DCB) in Abläufen der Kläranlage Niederkirchen

Datum	c (CB) [µg/l]		c (DCB) [µg/l]	
09.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
10.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
11.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
12.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
13.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
16.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
17.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
18.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
19.10.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
20.10.	5,6	55,5	10,7	93,7
23.10.	29,9	n.b.	56,6	n.b.

Tab. A.V.11-2: Gehalte an chlorierten Benzoesäuren in Abläufen der Kläranlage Niederkirchen (Fortsetzung)

Datum	c (CB) [µg/l]		c (DCB) [µg/l]	
24.10.	8,7	11,8	17,5	25,4
25.10.	2,2	10,7	3,5	22,7
26.10.	22,6	n.n.	10,3	
27.10.	23,7	31,5	50,2	
30.10.	10,7	8,1	15,6	14,4
31.10.	4,9	3,7	6,7	7,9
01.11.	2,1	3,1	4,1	3,3
02.11.	1,0	1,1	2,0	2,3
03.11.	1,2	1,2	1,8	2,0
06.11.	0,7	0,5	1,1	0,9
07.11.	0,4	0,5	1,2	1,1
08.11.	0,5	0,5	0,5	0,6
09.11.	0,3	0,2	0,7	0,6
10.11.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
13.11.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
14.11.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
15.11.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

Tab. A.V.12-1: Gehalte an 2-Chlorphenylessigsäure (CPE) in Abwässern der Kläranlage Neustadt/Weinstraße

Datum	c (CPE) [µg/l]		Wasservolumen [m <sup>3</sup> ]
	Zulauf	Ablauf	
16.10.	n.n.	n.n.	9810
17.10.	n.n.	n.n.	9650
18.10.	n.n.	n.n.	8960
19.10.	n.n.	n.n.	10280
20.10.	n.n.	n.n.	8700
23.10.	n.n.	18,1	12820
24.10.	4,5	9,7	36728
25.10.	1,2	2,9	13622
26.10.	0,9	1,4	10180
27.10.	14,2	18,2	8780

Tab. A.V.12-2: Gehalte an 2-Chlorphenylelessigsäure (CPE) in Abwässern der Kläranlage Neustadt/Weinstraße (Fortsetzung)

Datum	c (CPE) [µg/l]		Wasservolumen [m <sup>3</sup> ]
	Zulauf	Ablauf	
30.10.	1,2	3,0	10850
31.10.	1,5	0,7	9470
01.11.	n.n.	n.n.	8000
02.11.	n.n.	n.n.	10440
03.11.	n.n.	n.n.	8760
06.11.	n.n.	n.n.	10470
07.11.	1,7	1,5	9310
08.11.	1,4	0,5	9300
09.11.	0,4	0,5	10030
10.11.	n.n.	n.n.	12250
13.11.	n.n.	n.n.	9820
14.11.	n.n.	n.n.	10270

Tab. A.V.13-1: Gehalte an 2,4-Dichlorphenylelessigsäure (DCPE) in Abwässern der Kläranlage Neustadt/Weinstraße

Datum	c (DCPE) [µg/l]		Wasservolumen [m <sup>3</sup> ]
	Zulauf	Ablauf	
16.10.	n.n.	n.n.	9810
17.10.	n.n.	n.n.	9650
18.10.	n.n.	n.n.	8960
19.10.	n.n.	n.n.	10280
20.10.	n.n.	n.n.	8700
23.10.	n.n.	n.n.	12820
24.10.	6,5	15,5	36728
25.10.	1,5	4,2	13622
26.10.	1,8	2,2	10180
27.10.	21,1	24,6	8780
30.10.	2,6	3,8	10850
31.10.	1,4	0,9	9470
01.11.	n.n.	n.n.	8000

Tab. A.V.13-2: Gehalte an 2,4-Dichlorphenylessigsäure (DCPE) in Abwässern der Kläranlage Neustadt/Weinstraße (Fortsetzung)

Datum	c (DCPE) [µg/l]		Wasservolumen [m <sup>3</sup> ]
	Zulauf	Ablauf	
02.11.	n.n.	n.n.	10440
03.11.	n.n.	n.n.	8760
06.11.	n.n.	n.n.	10470
07.11.	1,9	2,2	9310
08.11.	1,2	0,9	9300
09.11.	0,9	0,5	10030
10.11.	n.n.	n.n.	12250
13.11.	n.n.	n.n.	9820
14.11.	n.n.	n.n.	10270

Tab. A.V.14-1: Gehalte an 2-Chlorbenzoesäure (CB) in Abwässern der Kläranlage Neustadt/Weinstraße

Datum	c (CB) [µg/l]		Wasservolumen [m <sup>3</sup> ]
	Zulauf	Ablauf	
16.10.	n.n.	n.n.	9810
17.10.	n.n.	n.n.	9650
18.10.	n.n.	n.n.	8960
19.10.	n.n.	n.n.	10280
20.10.	n.n.	n.n.	8700
23.10.	n.n.	n.n.	12820
24.10.	7,5	17,3	36728
25.10.	2,1	4,4	13622
26.10.	2,1	3,0	10180
27.10.	36,7	34,2	8780
30.10.	4,8	5,8	10850
31.10.	3,4	2,2	9470
01.11.	1,3	1,8	8000
02.11.	n.b.	n.b.	10440
03.11.	n.b.	n.n.	8760
06.11.	n.n.	n.n.	10470
07.11.	2,9	2,9	9310

Tab. A.V.14-2: Gehalte an 2-Chlorbenzoesäure (CB) in Abwässern der Kläranlage  
Neustadt/Weinstraße (Fortsetzung)

Datum	c (CB) [µg/l]		Wasservolumen [m <sup>3</sup> ]
	Zulauf	Ablauf	
08.11.	2,8	1,5	9300
09.11.	n.n.	1,0	10030
10.11.	n.b.	n.b.	12250
13.11.	n.n.	n.n.	9820
14.11.	n.n.	n.n.	10270

Tab. A.V.15: Gehalte an 2,4-Dichlorbenzoesäure (DCB) in Abwässern der Kläranlage  
Neustadt/Weinstraße

Datum	c (DCB) [µg/l]		Wasservolumen [m <sup>3</sup> ]
	Zulauf	Ablauf	
16.10.	n.n.	n.n.	9810
17.10.	n.n.	n.n.	9650
18.10.	n.n.	n.n.	8960
19.10.	n.n.	n.n.	10280
20.10.	n.n.	n.n.	8700
23.10.	n.n.	n.n.	12820
24.10.	13,3	24,6	36728
25.10.	3,2	7,5	13622
26.10.	3,8	5,9	10180
27.10.	52,1	57,0	8780
30.10.	9,2	10,1	10850
31.10.	5,6	2,4	9470
01.11.	2,4	2,8	8000
02.11.	n.n.	n.b.	10440
03.11.	n.n.	n.n.	8760
06.11.	n.n.	n.n.	10470
07.11.	5,4	4,0	9310
08.11.	4,4	2,3	9300
09.11.	n.n.	1,0	10030
10.11.	n.b.	n.b.	12250
13.11.	n.n.	n.n.	9820

## Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Name: Jan Bernd Barhorst  
geboren am: 31. Oktober 1977  
in: Mühlen (Oldenburg)  
Familienstand: ledig  
Staatsangehörigkeit: deutsch

### Schulbildung:

1984 – 1988: Grundschule St. Antonius, Mühlen  
1988 – 1997: Kolleg St. Thomas, Vechta  
Juni 1997: Abitur

### Wehrdienst:

1997 – 1998: Grundwehrdienst in Goslar und Ahlhorn

### Studium:

1998 – 2002: Studium der Lebensmittelchemie an der  
Technischen Universität Braunschweig  
02/2002: Praktische Prüfung / Erste Staatsprüfung  
05/2002: Mündliche Prüfung / Erste Staatsprüfung  
07/2002 – 10/2002: Wissenschaftliche Abschlussarbeit  
  
2002 – 2003: Bewerber der Lebensmittelchemie am  
Niedersächsischen Landesamt für  
Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit in  
Braunschweig (LAVES LI Braunschweig) und  
Lüneburg (LAVES IfB Lüneburg)  
10/2003: Zweite Staatsprüfung  
2004-2007: Promotion am Institut für Agrarökologie der RLP  
AgroScience (ehemaliger Fachbereich Ökologie des  
DLR Rheinpfalz) in Neustadt/Weinstraße

